



Diferentes estrategias para minimizar la contaminación por plaguicidas de aguas superficiales y subterráneas en zonas olivareras

Memoria que presenta

M.^a Jesús Calderón Reina

para optar al título de Doctor por la
Universidad de Sevilla

Sevilla, Abril 2017

Diferentes estrategias para minimizar la contaminación por plaguicidas de aguas superficiales y subterráneas en zonas olivareras

Visado en Sevilla, a 5 de Abril de 2017

LOS DIRECTORES

Dra. M.^a Carmen Hermosín Gaviño
Profesora de Investigación del CSIC

Dr. Juan Cornejo Suero
Profesor de Investigación del CSIC

EL TUTOR

Dra. María Elena Fernández Boy
Profesora Titular de la Universidad de Sevilla



FACULTAD DE QUÍMICA

Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola

DRA. ROSARIO VAZ PARDAL, DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO DE CRISTALOGRAFÍA,
MINERALOGÍA Y QUÍMICA AGRÍCOLA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Certifica: Que la presente Memoria de Investigación titulada “Diferentes estrategias para minimizar la contaminación por plaguicidas de aguas superficiales y subterráneas en zonas olivereras”, presentada por Dña. M.ª Jesús Calderón Reina para optar al grado de Doctor, ha sido realizada en el marco del Programa de Doctorado en Recursos Naturales y Medioambiente del Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola.

En Sevilla, a 5 de Abril de 2017



DOCTOR D. JOSÉ ENRIQUE FERNÁNDEZ LUQUE, DIRECTOR DEL INSTITUTO DE RECURSOS NATURALES Y AGROBIOLOGÍA DE SEVILLA DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Certifica: Que la presente Memoria de Investigación titulada “Diferentes estrategias para minimizar la contaminación por plaguicidas de aguas superficiales y subterráneas en zonas olivereras”, presentada por Dña. M.ª Jesús Calderón Reina para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla, ha sido realizada en el Departamento de Agroquímica, Microbiología Ambiental y Conservación de Suelos en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), bajo la dirección de los Drs. D.ª M.ª Carmen Hermosín Gaviño y D. Juan Cornejo Suero, reuniendo todas las condiciones exigidas a los trabajos de Tesis Doctorales.

En Sevilla, a 5 de Abril de 2017

ÍNDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
I.1 Problemática medioambiental de los plaguicidas en el olivar	3
I.2 Dinámica de plaguicidas en suelo: procesos	6
I.2.1 Procesos de transferencia o transporte	7
I.2.1.1 Adsorción-desorción	7
I.2.1.2 Lixiviación	14
I.2.1.3 Escorrentía	16
I.2.1.4 Infiltración	17
I.2.1.5 otros procesos de transporte	17
I.2.2 Procesos de transformación o degradación	18
I.2.2.1 Biodegradación	19
I.2.2.2 Fotodegradación	19
I.2.2.3 Degradación química	20
CAPÍTULO II. OBJETIVOS GENERALES	23
CAPÍTULO III. LABOREO TRADICIONAL Y CUBIERTAS VEGETALES	27
III.1 Introducción	29
III.2 Objetivos	36
III.3 Materiales	37
III.3.1 Localización y suelo	37
III.3.2 Herbicidas	40
III.4 Métodos	42
III.4.1 Estudio de campo	42
III.4.1.1 Aplicación y muestreo	42
III.4.2 Estudio de laboratorio	45
III.4.2.1 Isoterma de adsorción-desorción	45

III.4.2.2 Estudio de disipación	47
III.4.2.3 Estudio de lixiviación	48
III.4.2.4 Estudio de porosidad	49
III.4.3 Extracción de herbicidas y condiciones analíticas	50
III.5 Resultados y discusión	53
III.5.1 Estudio de campo	53
III.5.1.1 Pluviometría y estudio de erosión	53
III.5.1.2 Evolución de plaguicidas en suelo	56
III.5.1.3 Evolución de plaguicidas en escorrentías	59
III.5.2 Estudio de laboratorio	65
III.5.2.1 Isotermas de adsorción-desorción	66
III.5.2.2 Estudio de disipación	69
III.5.2.3 Estudio de lixiviación	73
III.5.2.4 Estudio de porosidad	80
III.6 Conclusiones	83
CAPÍTULO IV. ENMIENDAS CON COMPOST DE ALPERUJO	85
IV.1 Introducción	87
IV.2 Objetivos	90
IV.3 Materiales	91
IV.3.1 Localización y suelo	91
IV.3.2 Herbicida	93
IV.4 Métodos	93
IV.4.1 Porosidad del suelo	93
IV.4.2 Isoterma de adsorción-desorción	94
IV.4.3 Fotodegradación	95

IV.4.4 Estudio de disipación	97
IV.4.5 Estudio de lixiviación	98
IV.4.6 Análisis del herbicida	98
IV.5 Resultados y discusión	99
IV.5.1 Propiedades del suelo y porosidad	99
IV.5.2 Isotherma de adsorción-desorción	103
IV.5.3 Fotodegradación	107
IV.5.4 Estudio de disipación	112
IV.5.5 Estudio de lixiviación	115
IV.6 Conclusiones	120
CAPÍTULO V. FORMULACIONES DE LIBERACIÓN CONTROLADA	123
V.1 Introducción	125
V.2 Objetivos	129
V.3 Materiales	130
V.3.1 Arcillas	130
V.3.2 Suelo	134
V.3.3 Herbicida	135
V.4 Métodos	136
V.4.1 Estudio de adsorción e isothermas de adsorción-desorción	136
V.4.2 Preparación de complejos	138
V.4.3 Cinética de liberación en agua	139
V.4.4 Estudio de lixiviación	140
V.4.5 Estudio de eficacia: Bioensayo	141
V.4.6 Condiciones analíticas	142
V.5 Resultados y discusión	143
V.5.1 Estudio de adsorción	143

V.5.2 Isotermas de adsorción-desorción	147
V.5.3 Preparación de complejos	153
V.5.4 Estudio de liberación en agua	155
V.5.5 Estudio de lixiviación	160
V.5.6 Bioensayo	168
V.6 Conclusiones	171
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES GENERALES	173
CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFÍA	179
CAPÍTULO VIII. PUBLICACIONES	207

El fenómeno de contaminación de aguas superficiales y subterráneas por plaguicidas se hace especialmente patente en determinados cultivos como es el olivar, al tratarse de un cultivo que se establece en zonas con pendientes pronunciadas, lo que unido a periodos de lluvias poco después de la aplicación, lleva consigo unas escorrentías que pueden transportar importantes cantidades de herbicidas. El hecho además de que estos cultivos estén establecidos sobre suelos muy erosionados y por tanto pobres en materia orgánica, hace que se favorezcan procesos de lixiviación o movimiento de plaguicidas en profundidad llegando incluso a alcanzar capas freáticas. Estos dos procesos han provocado que en los últimos años se hayan producido varias alarmas sanitarias como consecuencia de la contaminación por plaguicidas de algunos embalses establecidos en zonas eminentemente olivareras, como es la cuenca del Guadalquivir. Por ello el objetivo general de este trabajo ha sido profundizar sobre diferentes estrategias que permitan disminuir los procesos de transporte de plaguicidas utilizados en el olivar, ya sea aumentando la retención de los plaguicidas en el suelo o utilizando formulaciones que permitan liberar el compuesto de forma controlada.

En esta memoria se han estudiado principalmente tres estrategias las cuales se han organizado en tres capítulos: a) capítulo III, en el que se han determinado, a nivel de campo, las pérdidas de los herbicidas terbutilazina y oxifluorfen asociadas a procesos de escorrentía, en dos parcelas dedicadas a laboreo tradicional, y como se ve afectado el comportamiento de estos compuestos en función de la época de aplicación y de sus propiedades físico-químicas. Igualmente, se ha estudiado, a nivel de laboratorio, el efecto barrera de la cubierta vegetal frente al laboreo tradicional en la retención de los herbicidas terbutilazina y oxifluorfen; b) capítulo IV, en el que se ha evaluado la eficacia de la enmienda con compost de alperujo en la retención del herbicida oxifluorfen en suelo; c) capítulo V, en el que se ha determinado la capacidad de algunas arcillas para actuar como soporte de formulaciones de liberación controlada (FLC) del herbicida terbutilazina y por tanto reducir la cantidad de herbicida disponible en fenómenos de contaminación de aguas. En todos estos trabajos se han utilizado suelos en los que estaba establecido el cultivo del olivar, en los cuales se han realizado una serie de experimentos como adsorción, disipación o lixiviación, comunes a las tres estrategias estudiadas, además de otros experimentos específicos.

Los resultados obtenidos e interpretados en esta Tesis nos han permitido obtener las siguientes conclusiones: 1) Confirmar que las pérdidas de los herbicidas terbutilazina y oxifluorfen, en parcelas con laboreo tradicional, están gobernadas por diferentes procesos, los cuales están influenciados fundamentalmente por las características físico-químicas de estos compuestos. Así fenómenos de movimiento vertical y de escorrentías (por asociación a partículas suelo) son los responsables de la aparición de terbutilazina y oxifluorfen respectivamente en aguas subterráneas y superficiales, respectivamente. Además, también se ha podido confirmar la viabilidad de determinadas estrategias como la cubierta vegetal en la reducción del riesgo de contaminación de aguas, ya que el incremento en materia orgánica que supone esta práctica cultural frente al laboreo tradicional, permite que procesos como la adsorción de los plaguicidas se vean favorecidos y por tanto su retención en el suelo. 2) El uso de enmiendas con compost de alperujo y la fuerte adsorción de oxifluorfen al suelo han demostrado tener una gran influencia sobre el resto de procesos que puede sufrir este herbicida en el suelo, los cuales también se ven afectados a su vez por la temperatura. De modo que en función de la época de aplicación del herbicida se verán favorecidos por un lado fenómenos como pérdidas por escorrentía (invierno), y por otro, fenómenos de movilidad vertical asociada a la MOS, tanto del suelo como de la enmienda (primavera). Ambos casos aumentarían el riesgo de contaminación de aguas superficiales y subterráneas, respectivamente, por parte del herbicida oxifluorfen. 3) El uso de arcillas modelo (SWy), naturales y modificadas, arcillas de bajo valor económico y locales, así como organoarcillas comerciales, han demostrado su valía a la hora de poder ser utilizadas como soportes para formulaciones de liberación lenta de terbutilazina, reduciendo la cantidad de ésta que puede liberarse al medio, y por tanto minimizando su capacidad de contaminación. Entre ellas cabe destacar el valor añadido de las organoarcillas comerciales frente a las arcillas modelo, debido a su competitividad económica y homogeneidad en la aplicación.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

I.1. PROBLEMÁTICA MEDIOAMBIENTAL DE LOS PLAGUICIDAS EN EL OLIVAR

La agricultura, tal y como la entendemos hoy en día, no tendría sentido sin el uso de plaguicidas. A pesar de las nuevas tendencias que se están imponiendo en determinados cultivos (olivar, cereales, hortícolas, cítricos) como es la agricultura ecológica, basada en la ausencia total de productos fitosanitarios, aun son muchas las superficies agrícolas que dependen de los plaguicidas. Si tenemos en cuenta que nuestra comunidad tiene en la agricultura una de sus principales fuentes de riqueza, esto llevará asociado también un gran consumo en fitosanitarios. En la Figura I.1 se representan los principales productos fitosanitarios comercializados en España durante el año 2015 (Mapama, 2015).

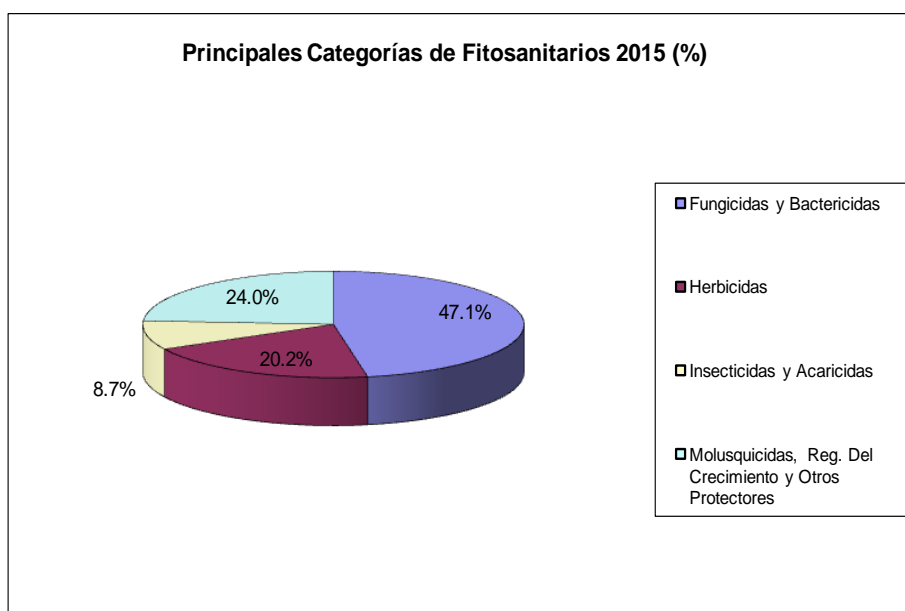


Figura I.1: Productos fitosanitarios comercializados en España en el año 2015 (Mapama, 2015)

En la Figura I.2 se representan los productos fitosanitarios comercializados durante el año 2010 en Andalucía (Junta de Andalucía, 2014).

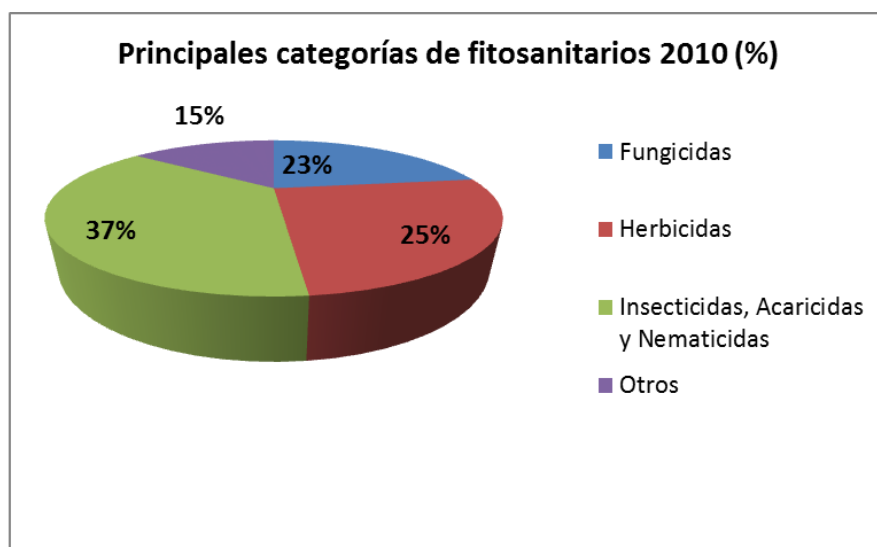


Figura I.2: Productos fitosanitarios comercializados en Andalucía en el año 2010 (Junta de Andalucía, 2014)

Como se puede observar, los herbicidas ocupan el tercer y segundo lugar en productos fitosanitarios comercializados en España y Andalucía, respectivamente. De modo que, aunque la cantidad comercializada ha disminuido en los últimos años, ésta aún sigue siendo considerable como para ser tomada en cuenta por sus efectos contaminantes.

El uso, y en algunos casos abuso, de este tipo de compuestos puede tener un impacto negativo sobre la salud humana y el medio ambiente. La Política Agrícola Comunitaria (PAC) ha evolucionado considerablemente en los últimos años, donde no se incentiva tanto la producción como el tomar conciencia de nuestra dependencia respecto a un medio ambiente sano e incentivar medidas ambientales. Por ejemplo se han adoptado una serie de estrategias entre las que se incluye el uso sostenible y minimizado de los plaguicidas, en la producción

integrada, el establecimiento de cubiertas vegetales en suelos con pendientes, mínimo o no laboreo, etc., siendo uno de los principales objetivos conseguir una reducción de los riesgos y peligros que supone el uso de plaguicidas para la salud y el medio ambiente. La utilización de plaguicidas aporta muchos beneficios (especialmente económicos) ya que permite un incremento en la producción agrícola y por tanto satisfacer la demanda de alimentos por parte de la sociedad, como consecuencia del incremento poblacional a nivel mundial. Otros beneficios incluyen una mejora de la calidad de las cosechas, una reducción de la necesidad de mano de obra e incluso pueden llegar a limitar la erosión del suelo al permitir reducir las labores. Sin embargo, debido a las propiedades intrínsecas de este tipo de compuestos, pueden llegar a tener efectos indeseables sobre la salud humana y el medio ambiente. En particular, los productos fitosanitarios liberados al medio ambiente de forma incontrolada pueden llegar a contaminar el suelo y las aguas superficiales y subterráneas, por fenómenos de lixiviación o escorrentía. Si además estas aguas contaminadas son usadas para el riego, la contaminación puede extenderse de nuevo al suelo receptor de dichas aguas. (Wauchope, 1978; Ritter, 1990; Cerejeira et al., 2003)

Teniendo en cuenta todo lo comentado hasta ahora, hay que destacar la importancia de los fenómenos de contaminación por plaguicidas de las aguas cercanas a zonas olivereras, tal y como se ha puesto de manifiesto en un estudio de 10 años de monitoreo continuo en aguas superficiales y subterráneas del valle del Guadalquivir, el cual nos permitió dimensionar la gravedad del problema de la presencia de herbicidas en dichas aguas (Hermosin et al. 2013), ya previamente apuntada por otros autores (Espigares et al. 1997) y que se sigue confirmando continuamente (Robles-Molina et al., 2014). A este respecto, nuestro grupo ha estudiado el efecto del laboreo tradicional frente al laboreo de (Cox et al., 1999a), y la adición de enmiendas orgánicas (Albarrán et al., 2003; Cox et al., 2007) sobre

la dinámica de los procesos que afectan a los pesticidas en el suelo, y que finalmente determinan su presencia en las aguas, hecho también considerado por otros muchos autores (Müller et al., 2002; Alletto et al., 2010). Pero todos estos estudios se centran en plaguicidas aplicados en cultivos diversos, y en épocas y entornos distintos.

I.2 DINÁMICA DE PLAGUICIDAS EN SUELO: PROCESOS

Un primer paso fundamental a la hora de profundizar sobre los fenómenos de contaminación en zonas olivereras es tener un conocimiento general de los diferentes procesos que puede sufrir un plaguicida una vez es incorporado al suelo (Figura I.3) ya que son éstos los que al final determinan su presencia en las aguas. De modo que vamos a repasar de forma general y resumida todos estos procesos, los cuales se engloban en dos grandes grupos:

1. *Procesos de transferencia o transporte*: son aquellos en los que el plaguicida se desplaza de un medio a otro, o dentro de un mismo medio, sin experimentar cambio en su estructura y, por tanto, sigue siendo potencialmente contaminante. Entre ellos destacan los procesos de, volatilización, infiltración, lixiviación, escorrentía adsorción-desorción y absorción.
2. *Procesos de transformación*: son aquellos por los que el compuesto se transforma o degrada originando nuevos compuestos que pueden ser de mayor, menor o igual toxicidad que el compuesto originario. Los principales son: degradación química, biodegradación y fotodegradación.

Un aspecto importante a tener en cuenta es que todos estos procesos se pueden dar simultáneamente en el suelo, viéndose afectados unos a otros en mayor o menor medida. De todos ellos, quizás sea el proceso de adsorción el que más va a influir sobre el resto de procesos, ya que va a limitar o determinar la

disponibilidad del plaguicida en la solución del suelo, que es precisamente la mayor implicada en todo el resto de procesos.

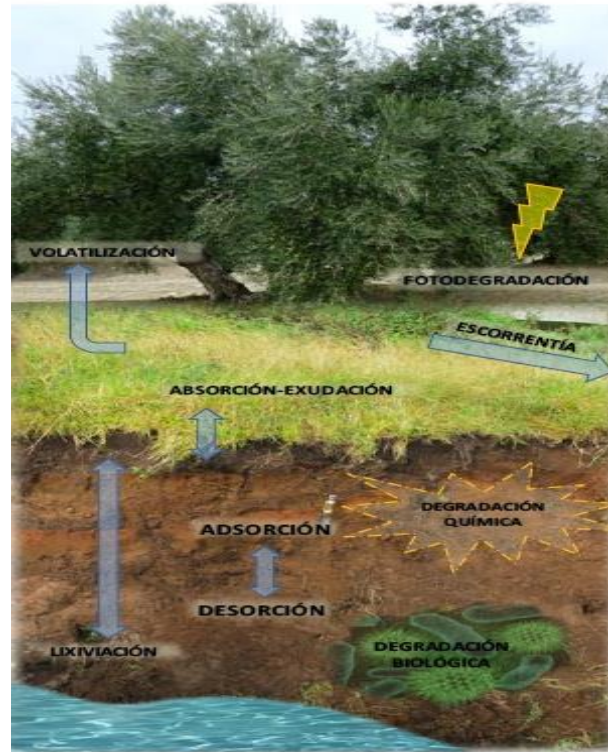


Figura I.3: Procesos que sufren los plaguicidas en el suelo

I.2.1 Procesos de transferencia o transporte

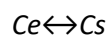
I.2.1.1 Adsorción-desorción

El proceso o fenómeno de adsorción se define como el paso de un soluto desde una fase líquida o gaseosa a la superficie de una fase sólida, sin producir cambios en estas últimas (Osgerby, 1970). El *adsorbato* sería el compuesto que se une a la fase sólida, mientras que el *adsorbente* sería la fase sólida en sí. Las

interacciones entre adsorbente y adsorbato pueden ser interacciones químicas y/o físicas como pueden ser fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, transferencia de carga, enlace iónico, cambio de ligando e interacciones hidrofóbicas. En los procesos de adsorción pueden intervenir varios tipos de interacciones, de modo que el resultado final es la suma de todas ellas.

Como ya se comentó anteriormente la adsorción es un proceso clave en el control del transporte, la transformación química y los procesos biológicos que se van a dar sobre los compuestos orgánicos, tales como los plaguicidas (Calvet, 1989). El proceso inverso a la adsorción es la desorción, en el que el adsorbato pasa del estado adsorbido a la fase líquida o gaseosa. La desorción puede ser total, en cuyo caso hablamos de adsorción reversible (Wauchope et al., 1985), o parcial, cuando una parte del adsorbato se une de manera irreversible (Cox et al., 1995). La irreversibilidad o histéresis es un fenómeno importante, ya que determina en gran medida la biodisponibilidad del plaguicida en el suelo (Wauchope et al., 2002).

Los procesos de adsorción-desorción son dinámicos, es decir, existe un continuo flujo de moléculas orgánicas que pasan de estar adsorbidas a desorbidas y viceversa hasta que se alcanza un equilibrio final o equilibrio dinámico en la adsorción. Este equilibrio se manifiesta como la distribución final del plaguicida entre la fase sólida o estado adsorbido (C_s) y la fase acuosa o estado disuelto (C_e).



Existe un coeficiente de distribución (K_d) que relaciona linealmente C_s y C_e .

$$K_d = C_s/C_e$$

Este coeficiente sirve para comparar el grado de adsorción de un mismo compuesto en varios suelos o de diferentes compuestos en un mismo suelo y bajo unas condiciones experimentales determinadas. Sin embargo, no siempre esta relación es lineal ya que existen otros factores que pueden afectar al tipo de adsorción, como por ejemplo la concentración del adsorbato. Es en estos casos cuando es conveniente el uso de las isothermas de adsorción para la caracterización de la adsorción.

Las isothermas de adsorción se obtienen experimentalmente en laboratorio haciendo interaccionar cantidades conocidas de adsorbente con disoluciones de diferentes concentraciones de adsorbato a una temperatura determinada. Según Giles et al. (1960), la mayoría de las isothermas se ajustan a alguno de los cuatro tipos siguientes (Figura I.4):

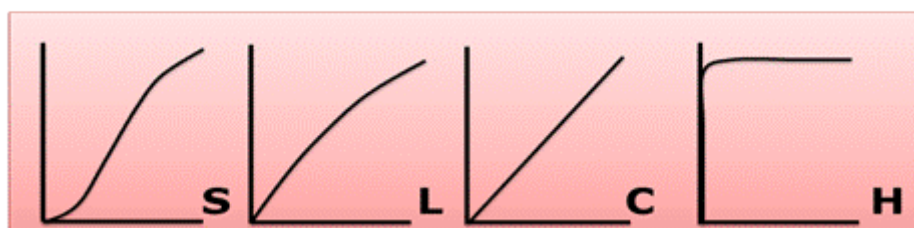


Figura I.4: Clasificación de las isothermas según Giles et al. (1960)

- *Isotherma tipo S:* la curvatura inicial de la isoterma indica competencia entre las moléculas de soluto y disolvente por los sitios de adsorción. Mientras que la segunda curvatura de la gráfica indica una atracción entre las moléculas de soluto adsorbidas y las que siguen en disolución, favoreciendo su adsorción.

- *Isoterma tipo L*: En este caso la alta pendiente inicial indica gran afinidad del soluto por el adsorbente hasta llegar a un punto en el que aumenta la dificultad para que las moléculas de soluto encuentren sitios de adsorción vacantes. Aquí existe poca competencia entre las moléculas de soluto y el disolvente por los sitios de adsorción, hablándose en este caso de adsorción específica.
- *Isoterma tipo H*: son un caso especial de isoterma tipo L, indicando una alta afinidad entre el soluto y el adsorbente, lo que en los casos de disoluciones diluidas supone una adsorción total.
- *Isoterma tipo C*: la cantidad adsorbida es directamente proporcional a la cantidad de soluto que hay en disolución. Este es el tipo de curva se obtiene para el reparto de un soluto entre dos disolventes inmiscibles, por lo que algunos autores en este caso utilizan el término “reparto” o “partición” del soluto entre el adsorbente y la disolución (Rutherford et al., 1992).

Para representar numéricamente las isothermas de adsorción existen numerosos modelos o ecuaciones pero para el caso de compuestos orgánicos en suelos, dada la heterogeneidad de su superficie y las concentraciones tan bajas a medir, el que mejor se adapta es la ecuación de Freundlich, ya que define mejor los parámetros de adsorción. Estos se describirán con mayor detalle en el apartado de metodología

Los principales factores que influyen en la adsorción-desorción son:

- *Propiedades físico-químicas del plaguicida*

Entre las características físico-químicas que más influencia van a tener en los fenómenos de adsorción destacan la estructura, carga, tamaño molecular y solubilidad. Según Bailey y White (1970) los factores estructurales que determinan el carácter químico de los plaguicidas, y que por tanto influyen en la adsorción son: naturaleza de los grupos funcionales del compuesto orgánico, la posición de los grupos sustituyentes respecto al grupo funcional y la presencia de insaturaciones en la molécula, ya que puede afectar al balance hidrofílico-hidrofóbico.

En cuanto a la carga molecular del compuesto orgánico, ésta resulta determinante en los procesos de adsorción ya que compuestos catiónicos en disolución son atraídos rápidamente por componentes cargados negativamente del adsorbente, como son minerales de la arcilla y sustancias húmicas. Por el contrario, plaguicidas cargados negativamente en disolución o aniónicos son repelidos por dichos componentes, pero a su vez atraídos por otro tipo de componente como los óxidos de hierro.

El tamaño molecular y la solubilidad son dos aspectos íntimamente relacionados entre sí, de modo que un tamaño molecular alto implica una menor solubilidad en agua del plaguicida y viceversa. La solubilidad tiene un efecto variable en el grado de adsorción de los plaguicidas al adsorbente, el cual dependerá del componente al que se esté adsorbiendo (mayor adsorción a la materia orgánica del suelo cuanto menos soluble sea el plaguicida (Chiou y Kile, 1994), mientras que si la adsorción se produce a los componentes minerales, ésta será mayor cuanto más soluble sea el plaguicida).

- *Composición coloidal del suelo*

Se entiende como componentes coloidales del suelo a aquellos con un tamaño de partícula inferior a $2\mu\text{m}$ y que presentan una alta superficie específica y reactividad superficial, siendo los principales responsables de las interacciones que se producen entre la fase sólida del suelo y compuestos orgánicos, como los plaguicidas. Estos componentes coloidales pueden distinguirse entre orgánicos e inorgánicos:

Componentes orgánicos: se clasifican en sustancias no húmicas (glúcidos, proteínas, lípidos, ácidos orgánicos, y en general compuestos de bajo peso molecular fácilmente degradables) y sustancias húmicas. Éstas últimas se clasifican a su vez en ácidos fúlvicos (solubles en medios ácidos y básicos), ácidos húmicos (solubles en medios alcalinos e insolubles en medios ácidos) y huminas (insolubles en ambos tipos de medios) (Schnitzer y Khan, 1972). Los compuestos orgánicos, en este caso los plaguicidas, que son apolares suelen interaccionar con las regiones hidrofóbicas de la materia orgánica del suelo, mientras las regiones hidrofílicas interactúan en mayor medida con los compuestos orgánicos más polares (Rutherford et al., 1992).

Componentes inorgánicos: Esta fracción está compuesta en su mayoría por los minerales de la arcilla o filosilicatos, y por los óxidos, hidróxidos y oxihidróxidos metálicos, principalmente de Fe, Al y Si (Dixon y Weed, 1989). Los filosilicatos presentan una estructura de apilamiento de láminas que pueden ser de dos tipos: tipo 1:1 formada por una capa de tetraedros de silicio condensada a otra de octaedros de aluminio; y tipo 2:1, formada por dos capas de tetraedros de silicio condensadas a una capa de octaedros (una a cada lado) de Al^{3+} , Fe^{3+} o Mg^{2+} . A los minerales que presentan esta última estructura se les conoce como esmectitas. En

ambos tipos de apilamientos se producen sustituciones isomórficas de cationes como el Si^{3+} por cationes de tamaño parecido pero menor carga como el Al^{2+} , siendo más frecuente estas sustituciones en el caso de minerales tipo 2:1. Estas sustituciones provocan una carga laminar negativa que es compensada por cationes inorgánicos que se sitúan entre las láminas o en los bordes. En muchos casos, estos cationes serán fácilmente intercambiables, de modo que otorgan gran variedad de sitios de adsorción tanto en el espacio interlaminar como en superficies externas (Lagaly, 2001). Este hecho es importante desde el punto de vista de la adsorción de determinados compuestos orgánicos como los plaguicidas a los minerales de la arcilla, que podrán unirse a éstos en función de sus características de carga.

Los óxidos metálicos consisten en empaquetamientos cúbicos o hexagonales de aniones O^{2-} y/o OH^- con cationes metálicos como Fe^{3+} , Al^{3+} , Mn^{4+} , Mn^{3+} , ocupando posiciones octaédricas. Estos óxidos se caracterizan por tener una alta superficie específica, lo que facilita la adsorción de compuestos orgánicos como los plaguicidas, fundamentalmente aniónicos (Celis et al, 1999a) y por tener gran variabilidad de carga superficial en función del pH del medio (Hingston et al., 1972).

- *pH de la disolución del suelo.* Este factor es especialmente importante en procesos de adsorción de plaguicidas ionizables, como son aquellos que suelen poseer grupos funcionales ácidos o básicos débiles, y que tienden a encontrarse de forma ionizada en un rango de valores de pH normales en el suelo (Kah y Brown, 2006). De modo que compuestos básicos débiles a valores de $\text{pH} < \text{pK}_a$ se encontrarán en forma protonada, favoreciéndose la adsorción a superficies cargadas negativamente como son la materia orgánica o minerales de la arcilla del suelo. En el caso de compuestos

ácidos débiles a valores de $\text{pH} > \text{pK}_a$ se encontraran en forma aniónica, siendo repelidos por dichas superficies. Este tipo de compuestos suelen ser los que con mayor frecuencia son encontrados en las aguas, tanto superficiales como subterráneas. En líneas generales, los herbicidas ionizables representan el mayor grupo de herbicidas aplicados al suelo (Harper 1994).

- *Otros factores como humedad, temperatura o tiempo de residencia del plaguicida en el suelo.* En líneas generales la adsorción aumenta al disminuir el contenido en agua del suelo y la temperatura; y al aumentar el tiempo de residencia del plaguicida en el suelo (Calvet, 1989)

I.2.1.2 Lixiviación

La lixiviación es el proceso por el cual el agua procedente de la lluvia o del riego arrastra o disuelve moléculas, dando lugar a un movimiento vertical a lo largo del perfil del suelo. Esto afecta a la efectividad biológica del plaguicida además de favorecer la contaminación de aguas subterráneas. El riesgo de contaminación de acuíferos por el transporte vertical de un plaguicida está determinado fundamentalmente por el balance entre la velocidad de transporte a través del suelo y la degradación a lo largo del perfil, ya que este último proceso disminuye el riesgo de contaminación de las aguas subterráneas (Bowman, 1989).

Existen diversos factores que van a influir en la movilidad de los plaguicidas en el suelo como son:

- *Propiedades físico-químicas del plaguicida:* características como la ionizabilidad, solubilidad en agua, presión de vapor y carácter hidrofóbico van a modificar el grado de retención del plaguicida por las partículas del suelo, afectando por tanto a su movilidad (Kah y Brown, 2006).

- *Adsorción por los coloides del suelo:* Los coloides minerales y la materia orgánica son los principales componentes del suelo que van a influir en los procesos de adsorción, siendo en los horizontes más superficiales donde la materia orgánica va a tener más influencia (Bouchard y Lavy, 1982), mientras que es en profundidad donde la fracción mineral, como arcillas y óxidos metálicos, van a controlar los fenómenos de adsorción (Beck et al., 1993).
- *Estructura del suelo:* El suelo es un sistema heterogéneo formado por partículas de distinto tamaño y naturaleza, construyendo un complejo sistema de poros entre los cuales destacan los macroporos por ser responsables de flujos preferenciales que pueden transportar a los plaguicidas a grandes profundidades (Flury, 1996). En el caso de poros de menor tamaño, el movimiento de los plaguicidas ocurre de forma más lenta que en el caso anterior, viéndose favorecidos en este caso procesos de difusión, adsorción y degradación.
- *Aporte de agua:* la intensidad y frecuencia del agua que llega al suelo, ya sea por lluvia o riego, va a tener una enorme influencia en la movilidad de los plaguicidas. La retención de plaguicidas en el suelo aumenta con el tiempo, por lo que lluvias caídas poco después de la aplicación de los plaguicidas van a ser responsables de que aumente la cantidad lavada de los mismos y que estos compuestos alcancen las aguas.
- *Prácticas culturales:* El tipo de laboreo que se establezca en el cultivo va a influir sobre manera en la lixiviación de plaguicidas, especialmente cuando se trate de un sistema como el laboreo tradicional. Bajo este

sistema se realizan labores profundas que destruyen la estructura del suelo creando grietas que hacen que los plaguicidas aplicados alcancen grandes profundidades cuando caen las lluvias. Sin embargo, existen otras técnicas de cultivo como el laboreo de conservación que, al mantener la estructura del suelo así como aumentar la materia orgánica en los primeros centímetros del mismo, favorece procesos de retención de los plaguicidas (Cox et al., 1999a). Otras prácticas culturales como las cubiertas vegetales utilizadas como barreras para evitar la erosión y las pérdidas por escorrentías pueden influir igualmente sobre la lixiviación de plaguicidas, ya que juegan un papel importante en los procesos de infiltración (Arora et al., 2010). Las enmiendas orgánicas también pueden considerarse como técnicas que influyen en la movilidad de plaguicidas, ya sea disminuyendo su lixiviación al ser retenidos por procesos de adsorción al aumentar el contenido en materia orgánica, o facilitando la lixiviación al asociarse el plaguicida con la materia orgánica soluble de la enmienda (Cox et al., 2007).

I.2.1.3 Escorrentía

El proceso de escorrentía o de precipitación en superficie tiene lugar cuando la tasa de precipitación o riego supera la tasa de infiltración de agua en el suelo. Las pérdidas de plaguicidas por escorrentía tienen lugar en disolución para plaguicidas muy solubles en agua, o con el plaguicida adsorbido a los coloides del suelo para compuestos poco solubles (Willis y McDowell, 1982; Ulrich et al., 2013). Los factores más importantes que determinan las pérdidas por escorrentía son las condiciones climáticas, las características del suelo y del plaguicida, y las prácticas culturales. Como ya se ha comentado en apartados anteriores, las

mayores pérdidas de plaguicidas que se producen en el olivar (cultivo sobre el que nos centramos en este trabajo) son a consecuencia de procesos de escorrentía.

I.2.1.4 Infiltración

Es el movimiento vertical, en los primeros centímetros de la capa arable del suelo, que experimenta un plaguicida cuando es arrastrado desde la superficie del suelo hacia el interior, actuando como paso previo a la lixiviación. No existen muchos trabajos que distingan entre ambos procesos, a excepción de aquellos que se realizan en condiciones de campo y a gran escala (Arora et al., 2010). Pero es un proceso de gran importancia a nivel de comportamiento medioambiental, porque supone una disminución de la cantidad disponible para las escorrentías que es la que contamina las aguas superficiales, y al introducir las moléculas del pesticida en la matriz de suelo aumenta su disponibilidad para todos aquellos procesos que frenan su lixiviación, como es la adsorción en los coloides, la biodegradación y la fitoabsorción sistémica por raíces. Por tanto todo lo que favorezca la infiltración, como pueden ser las cubiertas vegetales, puede favorecer un buen comportamiento medioambiental del plaguicida, salvo en suelos muy pobres donde los procesos aludidos, de adsorción y biodegradación, esté minimizados

I.2.1.5 Otros procesos de transporte

- ✓ *Volatilización:* Se trata del paso del plaguicida a fase gaseosa de forma que el compuesto puede ser transportado a puntos muy alejados del lugar de aplicación. Los principales factores que influyen sobre este fenómeno van a ser las propiedades físico-químicas del plaguicida, las características del suelo, las condiciones climáticas (especialmente temperatura y humedad) y las prácticas de cultivo (Bedos et al., 2002). Es un proceso que suele darse en los primeros centímetros de suelo, aunque

también en la superficie de plantas y cuando el plaguicida se encuentra en la disolución del suelo.

- ✓ *Absorción y exudación por plantas y organismos:* Las plantas y microorganismos del suelo asimilan plaguicidas, acumulándolos y metabolizándolos. Este proceso de absorción está determinado en gran medida por la fijación del plaguicida por los coloides del suelo, ya que este proceso determina la disponibilidad del plaguicida en la solución del suelo. Los organismos también exudan estos compuestos, volviendo así a estar disponibles en la disolución del suelo.
- ✓ *Difusión:* La difusión es el fenómeno por el cual un contaminante se desplaza de un punto a otro dentro de una misma fase en el suelo o agua. Los factores que más afectan a la difusión son la solubilidad y presión de vapor del contaminante, así como la temperatura, el contenido de humedad y la porosidad del suelo.

I.2.2 Procesos de transformación o degradación

La degradación de plaguicidas en suelo está determinada por muchos factores entre los que se incluyen la actividad microbiana, el contenido de carbono orgánico del suelo (COS) y de otros nutrientes, el pH, la salinidad, la temperatura del suelo, el contenido en oxígeno, la humedad y la biodisponibilidad de plaguicidas en función del grado de adsorción a la fase sólida del suelo (Borggaard y Gimsing, 2008). Los procesos de degradación a los que están sometidos los plaguicidas son: biodegradación, fotodegradación y degradación química.

I.2.2.1 Biodegradación

Se trata de la vía de descomposición de plaguicidas en suelo más importante, la cual es llevada a cabo por microorganismos que se encuentran en el suelo, como hongos y bacterias. Estos microorganismos usan a estos compuestos como fuente de nutrientes y energía, especialmente en ausencia de otro tipo de nutrientes más fácilmente degradables. Cuando la degradación es completa, hablamos de mineralización, formándose CO_2 , H_2O y CH_4 , (en condiciones aerobias y anaerobias). Sin embargo, cuando no es completa, se pueden producir una serie de metabolitos o compuestos de complejidad intermedia, que pueden presentar una toxicidad igual, menor o incluso superior al compuesto de partida. Existen diversos factores que van a afectar a la biodegradabilidad de un plaguicida como son por un lado la adsorción, que hace que la molécula no esté disponible para los microorganismos, y por otro, todos aquellos factores que van a influir directamente en la actividad de la población microbiana del suelo (aumentándola o disminuyéndola) como son la temperatura, humedad, pH, materia orgánica, etc. (Kah et al., 2007; Arias-Estévez et al., 2008).

I.2.2.2 Fotodegradación

La fotodegradación consiste en la transformación del plaguicida por la luz solar (Horspool, 1970), que puede tener lugar mediante reacciones de oxidación, reducción, hidrólisis, sustitución e isomerización. Esta reacción es importante en los primeros milímetros del suelo, en la superficie de las plantas y en ecosistemas acuáticos. A medida que el plaguicida penetra en el suelo, más difícil es que se produzca este tipo de fenómeno ya que la radiación solar puede atenuarse hasta un 90% en los primeros 0.2 mm del suelo. Los principales factores que afectan a la fotodescomposición de los plaguicidas son: tiempo e intensidad de exposición del compuesto a la radiación solar, presencia de catalizadores fotoquímicos que

pueden favorecer la descomposición, el pH del suelo, el grado de aireación del suelo, el estado en el que se encuentra el plaguicida (sólido, en disolución, vapor, etc.), el grado de adsorción y la estructura química del plaguicida. La fotodegradación puede ser directa o indirecta, que es cuando la energía de la radiación solar es absorbida por otros compuestos que luego la transmiten a la molécula de plaguicida, o bien dar lugar a especies reactivas intermedias que pueden entrar en acción con el plaguicida (Cox et al., 1996; Mansour et al., 1989; Romero et al., 1998).

I.2.2.3 Degradación química

Los procesos de degradación química más frecuentes son las reacciones de hidrólisis y redox, pudiendo ocurrir tanto en disolución, como catalizadas por la superficie de las partículas del suelo (arcillas, óxidos metálicos, iones metálicos, superficies de sustancias húmicas y materiales orgánicos diversos) (Cornejo et al., 1983). Entre los factores más importantes que afectan a los procesos de degradación química están el pH, potencial redox, temperatura y la composición de la disolución y de la fracción coloidal del suelo (Kodaka et al., 2003).

Una vez que se tiene un cierto conocimiento de los procesos que puede sufrir un plaguicida en el suelo, esto nos permite centrarnos en algunos de los plaguicidas más utilizados en el olivar como son terbutilazina y oxifluorfen, objeto de este estudio. En el caso de terbutilazina, su uso en olivar ha sido prohibido hace relativamente poco tiempo (principios del año 2014), ya que se trata de uno de los compuestos que más veces ha sido encontrado en las aguas asociadas al olivar, superando en muchos casos los límites establecidos por la UE (0.1 µg/l) con respecto a sustancias activas (Hermosín et al., 2013). Se trata de un herbicida

ampliamente estudiado y cuyo comportamiento está bien descrito en la bibliografía (Cabrera et al., 2007). Uno de los pasos dados por las casas comerciales fue el de introducir nuevos compuestos con un menor potencial contaminante respecto a productos como la terbutilazina, ya que presentaban una baja solubilidad y baja dosis de aplicación. Este es el caso de oxifluorfen, herbicida introducido en el olivar hace relativamente poco tiempo, pero que ya ha sido detectado en cantidades superiores a los 0.1 µg/l establecidos por las autoridades, tanto en aguas superficiales como subterráneas (Hermosín et al, 2013). Algunos autores han detectado la presencia de oxifluorfen en el agua procedente del lavado de la aceituna en el proceso de extracción del aceite de oliva (Guardia-Rubio et al., 2008). Sin embargo, existen pocos estudios en los que se haya relacionado los diferentes procesos que puede sufrir oxifluorfen en el suelo y la forma en que éstos pueden influir en su presencia en las aguas, a excepción del realizado por Yen et al., (2003), llevado a cabo en condiciones climáticas y agronómicas muy diferentes a las de nuestra zona. Esta ausencia de estudios se hace extensible también a terbutilazina, y más concretamente cuando se trata de estudios in situ en zonas olivareras y bajo sistemas de laboreo extensamente aplicados como es el laboreo tradicional.

Precisamente ahí radica la originalidad de esta tesis, y es en focalizarla en un cultivo como el olivar, que por una serie de circunstancias, es de un gran valor paisajístico, económico, y motor de innovación en muchos pueblos de Andalucía; pero que presenta unas características intrínsecas que hace que esté estrechamente ligado a fenómenos de contaminación de aguas por plaguicidas. Estas características son principalmente: a) Distribución casi en monocultivo en zonas con grandes pendientes del Valle del Guadalquivir; b) Clima mediterráneo, caracterizado por largos periodos secos seguidos de periodos cortos de intensas lluvias, que suelen coincidir con la época de aplicación de los herbicidas; c)

Presencia de gran cantidad de arroyos, afluentes y pantanos para el consumo humano; d) Poca cubierta vegetal y aplicación de labores tradicionales (y en profundidad) para mantener el suelo desnudo. Todos estos condicionantes hacen que el olivar conlleve un gran riesgo medioambiental, por un lado ya comprobado, que hace necesaria la exploración de sistemas o herramientas que permitan la sostenibilidad de este cultivo, así como compatibilizar el uso de herbicidas. Por ello se van a abordar en los objetivos de esta Tesis, algunas estrategias que permitan minimizar la presencia en aguas, tanto superficiales como subterráneas, de herbicidas que se utilizan, o han sido utilizados, en el cultivo del olivar.

CAPÍTULO II. OBJETIVOS GENERALES

II. OBJETIVOS GENERALES

El objetivo general de esta Tesis es determinar cómo ciertas prácticas de manejo del cultivo del olivar pueden ser útiles para minimizar el impacto de los herbicidas en las aguas del Valle del Guadalquivir. Se han abordado 3 tipos de manejo en los correspondientes capítulos:

1. Capítulo III: Determinar, a nivel de campo, si el laboreo tradicional, la época de aplicación (primavera o invierno), y el tipo de herbicida (oxifluorfen y terbutilazina), tienen efecto sobre las pérdidas por escorrentías de estos herbicidas durante una campaña agrícola. Además, a nivel de laboratorio, determinar si los cambios que afectan a la matriz del suelo por implantación de 8 años de cubierta vegetal, tienen un papel relevante en las pérdidas por lixiviación
2. Capítulo IV: Determinar si el uso de enmiendas orgánicas con compost de alperujo puede ser conveniente para reducir la contaminación de aguas superficiales y subterráneas, producida por el uso del herbicida oxifluorfen en el olivar.
3. Capítulo V: Determinar, a escala de laboratorio, qué tipo de arcillas, naturales, modificadas e incluso comerciales, pudieran ser buenas como soportes de liberación lenta del herbicida terbutilazina, para disminuir el impacto en aguas subterráneas por lixiviación. También se determina diferentes tipos de formulación y contenidos de ingredientes activo

*CAPÍTULO III. EFECTO DEL LABOREO
TRADICIONAL EN LAS PÉRDIDAS DE
TERBUTILAZINA Y OXIFLUORFEN EN EL
OLIVAR. ESTUDIO PRELIMINAR, A ESCALA
DE LABORATORIO, DEL USO DE CUBIERTA
VEGETAL COMO ALTERNATIVA AL LABOREO
TRADICIONAL*

III.1 INTRODUCCIÓN

El fenómeno de contaminación de aguas superficiales y subterráneas por plaguicidas se hace especialmente patente en determinados cultivos como es el olivar (Espigares et al., 1997; Belmonte-Vega et al., 2005; Barba-Brioso et al., 2010; Hermosín et al., 2013), al tratarse de un cultivo que se establece en zonas con pendientes pronunciadas, lo que unido a que los periodos de lluvias ocurren casi siempre en torno a la época de la aplicación, lleva consigo unas escorrentías y lixiviados que pueden transportar importantes cantidades de herbicidas. En los últimos años estas lluvias están resultando prácticamente torrenciales lo que agrava el problema, claramente puesto de manifiesto por Hermosín et al. (2013). El hecho además de que estos cultivos estén establecidos sobre suelos muy erosionados, y por tanto pobres en materia orgánica, hace que los procesos de escorrentía y lixiviación o movimiento de plaguicidas en profundidad se favorezcan, llegando incluso a alcanzar capas freáticas. Estos dos procesos han provocado que en los últimos años se hayan producido varias alarmas sanitarias como consecuencia de la contaminación por plaguicidas de algunos embalses establecidos en zonas eminentemente olivareras, como es la cuenca del Guadalquivir. Entre ellos destacan los casos como el del embalse del Retortillo ocurrido en 2000, seguidos de otros casos como el del pantano de Rumblar, Dañador e Iznajar. El denominador común en todos ellos fue que presentaban contaminaciones por herbicidas que habían sido utilizados en el olivar, como simazina, diurón y terbutilazina. Estos hechos llevaron a las autoridades a prohibir estos compuestos en el olivar, aunque en el caso concreto de terbutilazina no ha sido hasta principios de 2014 cuando se ha llevado a cabo su prohibición, momento en el que ya había comenzado a realizarse este trabajo.

Tabla III.1: Porcentaje de explotaciones (almazara, mixta y mesa) y superficies según diferentes intervalos de pendientes (año 2009)

Pendiente (%) [*]	Explotaciones (%)	Superficie de ha (%)
0-8	20.8	20.5
8-10	9.2	11.9
10-15	20.8	24.7
12-20	16.5	16.2
20-25	12.0	10.8
>25	20.7	15.8

^{*}Datos obtenidos a partir del modelo digital de terreno SIGPAC (Plan Director del Olivar, 2015)

Tabla III.2: Evolución del porcentaje de superficie de olivar en función de la pendiente del terreno entre los años 2000 y 2009.

Año	% Superficie [*]	
	<20%	>= 20%
2000	74.83	25.17
2005	73.69	26.31
2009	73.20	26.80

^{*}Datos obtenidos a partir del modelo digital de terreno SIGPAC (Plan Director del Olivar, 2015)

En Andalucía, 1.52 millones de hectáreas están dedicadas al olivar lo que supone el 30% de la superficie agraria, calculado a partir de la superficie de olivar registrada en el Anuario de Estadística de 2010 del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, y la Superficie Agraria Útil del Censo Agrario de 30

2009 (Plan Director del Olivar Andaluz, 2015). En la Tabla III.1 se muestran los porcentajes de explotaciones y superficies olivareras según la pendiente del terreno en el que está establecido el cultivo, observándose que el mayor porcentaje en superficie (24.7%) corresponde a una pendiente del 10-15%. Además, en la tabla III.2 se muestra la evolución del porcentaje de superficie de olivar en función de la pendiente del terreno entre los años 2000 y 2009. Claramente se observa una ligera tendencia a disminuir la superficie olivarera con pendientes inferiores al 20% y a aumentar la superficie olivarera con pendientes superiores o iguales al 20% (Plan Director del Olivar Andaluz, 2015). Hay que unir a este hecho el que la climatología típica de estas zonas corresponda a clima Mediterráneo, es decir, pluviometría marcadamente estacional, con un periodo muy seco (junio-septiembre), y un periodo lluvioso en otoño-invierno en el que en un año medio se produce el 70% de la pluviometría total anual. Esto hace que la erosión del suelo por el agua en el olivar sea un grave problema y que las pérdidas de suelo que se producen en este tipo de cultivo sean muy superiores a las observadas en otros cultivos como cereal, o zonas de pastizal o matorral (Gómez et al., 2009a). Diversos factores intrínsecos hacen que el problema de la erosión sea consustancial con el olivar: cultivo en suelos con pendiente; climatología de tipo mediterráneo; suelos arcillosos con baja velocidad de infiltración y una marcada hidrofobia en el momento en el que se producen las primeras lluvias otoñales; suelos empobrecidos con bajo contenido en materia orgánica; y escasa cobertura del suelo por el cultivo (Pastor et al., 2000). Si unimos a todos estos factores el hecho de que la mayor aplicación de herbicidas en el olivar se realiza precisamente en épocas en las que se concentra la mayor pluviometría del año (finales de otoño-principio de invierno), prácticamente tenemos asegurado que estos compuestos sean arrastrados por escorrentías y acaben en los embalses o pantanos que se encuentran distribuidos por la zona. Si la aplicación se realiza en épocas en las que no hay tanta pluviometría y en suelos con muy bajo contenido

en materia orgánica (algo común en el olivar) se pueden ver favorecidos otros procesos como la lixiviación o movimiento en profundidad de los plaguicidas. Incluso en épocas en las que la pluviometría es moderada y continua, han llegado a aparecer residuos de plaguicidas en fuentes y pozos localizados en el Valle del Guadalquivir (Hermosín et al., 2013). Esta presencia de herbicidas en aguas que van destinadas al consumo humano tiene una gran relevancia en la salud pública y por tanto es prioritario poder desarrollar herramientas que permitan minimizar e incluso evitar estos efectos adversos. De ahí que los esfuerzos actuales vayan encaminados a encontrar diferentes estrategias que puedan aplicarse al cultivo del olivar para reducir, o al menos minimizar en la medida de lo posible este potencial contaminante por herbicidas que presenta el olivar.

Estas estrategias están encaminadas tanto a modificar las características físicas y químicas del suelo, como el modo en el que va a ser aplicado el herbicida al suelo, con el objeto de que las cantidades de fitosanitarios que puedan alcanzar las aguas, en todos los casos, sean las mínimas posibles. El tipo de laboreo utilizado en el olivar, juega un papel muy importante en la aparición de estos compuestos en las aguas, tanto superficiales como subterráneas, y una modificación de las prácticas culturales, como es la implantación de cubiertas vegetales, puede además utilizarse como estrategia para reducir la cantidad de contaminante.

El laboreo, o el comúnmente denominado *laboreo tradicional (LT)*, es aún un sistema de cultivo ampliamente utilizado en olivicultura, cuyo principal objetivo es aumentar las disponibilidades de agua para el cultivo y eliminar malas hierbas. La profundidad de esta labor varía entre los 15 y 25 cm, lo que provoca grandes pérdidas de agua cuando se voltea el suelo y suelas de labor que compactan el suelo y lo hace impermeable. El olivarero a veces no es consciente de que esta práctica cultural desagrega las partículas de suelo y destruye la cubierta vegetal

contribuyendo así a aumentar la erosión, lo que genera grandes pérdidas de suelo. Existen otras técnicas de cultivo alternativas como el *semilaboreo* (SL) que es una técnica intermedia entre no laboreo y laboreo tradicional, y el *no laboreo con suelo desnudo* (NLD). Concretamente el NLD consiste en la supresión total del laboreo y en el que la eliminación de hierbas se realiza mediante la aplicación de herbicidas residuales en otoño y en pre-emergencia, dejando el suelo libre de vegetación adventicia durante todo el año. Es en esta práctica en la que mayores cantidades de herbicida se han utilizado, como los ya prohibidos simazina, diuron y terbutilazina. Existen otros compuestos como oxifluorfen que están siendo utilizados actualmente como alternativa a dichos herbicidas. En cualquier caso la elección de la materia activa y la dosis a aplicar dependerá de la especie a controlar y del desarrollo de la misma en el momento de la aplicación (Saavedra y Pastor, 1994). El NLD ha dado excelentes resultados en el cultivo del olivar, especialmente en años secos, sin embargo en zonas con pendiente, proporciona peores resultados por las pérdidas que se producen por escorrentía superficial a consecuencia de las lluvias (Pastor y Guerrero, 1990), lo que a su vez contribuye a una mayor contaminación por plaguicidas de las aguas. Otra técnica que ha adquirido cierta importancia en los últimos años es el *laboreo de conservación* (LC) en el que se realizan una o dos labores muy superficiales (5 cm) durante el año, cuya misión es romper la costra superficial que limita la infiltración, aplicándose el herbicida a toda la superficie para poder mantener la vegetación controlada durante todo el año. Comparado con técnicas como el LT y el NLD se ha observado que el LC presenta grandes ventajas especialmente en zonas con pendiente y/o suelos muy arcillosos (Pastor et al., 2000). Además existen estudios en los que se ha observado que el movimiento de plaguicidas en profundidad es menor bajo esta técnica debido a procesos como el de adsorción, el cual se ve favorecido respecto a otras técnicas como el LT (Cox et al., 1997).

Desde el punto de vista del control de la erosión y tratando de mejorar la infiltración y fertilidad del suelo, el cultivo con *cubierta vegetal* (CV) puede llegar a ser la solución más eficaz (Blevins, 1986; Gómez et al., 2009b) frente a otras técnicas de cultivo, además de favorecer el almacenamiento de C en el suelo y por tanto disminuir la concentración de CO₂ atmosférico, con el consiguiente beneficio medioambiental (Nieto et al., 2013). Cualquier estrategia que permita de un modo económico cubrir el suelo, sin que se establezca competencia por el agua con el olivo, siempre será recomendable. Existen dos principales modos de cubrir el suelo: con cubierta inerte y con cubierta vegetal viva. La cubierta inerte consiste en cubrir el terreno con piedras, restos vegetales procedentes de hojas, podas, paja, etc., siendo dentro de dichas cubiertas, el de restos de podas triturados el que más se está utilizando al reducir considerablemente las pérdidas de agua y nutrientes por infiltración (Hernández et al., 2005). Sin embargo, el uso de cubiertas vegetales vivas es el que más eficaz está resultando en la actualidad a la hora de resolver los problemas de erosión, mejorar la infiltración, así como un modo de mantener la calidad de las aguas (Bowman et al. 2000). Pero para conseguir todos estos efectos beneficiosos hay que tener en cuenta ciertos requerimientos a la hora de establecer la cubierta vegetal:

- Establecer la cubierta en la época del año en la que la competencia con el cultivo por el agua sea mínima, es decir que el crecimiento vegetativo del cultivo sea reducido (invierno)
- Realizar siegas químicas (herbicidas) o mecánicas (segadoras o desbrozadoras) de la cubierta en la época de mayor crecimiento vegetativo del cultivo (primavera) para evitar competencias de agua y nutrientes.
- Elegir el momento correcto para la siega evitando hacerla cuando ya la cubierta ha consumido gran parte del agua del suelo (Castro, 1993) o que

impida el adecuado manejo de la cosecha por parte del agricultor como consecuencia de un inadecuado tratamiento de las malas hierbas

- Correcta elección de la especie vegetal, o combinación de ellas, a sembrar, en el caso de no usar la vegetación adventicia existente, entre las que destacan: gramíneas (*Lolium rigidum*, *Poa annua*; *Hordeum vulgare*) por ser muy eficaces contra la erosión y fácil de segar; leguminosas (*Trifolium repens*, *Vicia sativa*) por ser capaces de fijar el nitrógeno atmosférico gracias al rhizobium presente en sus raíces; y crucíferas (*Sinapis alba*, *Eruca vesicaria*, *Brassica carinata*) por su alta capacidad de controlar fitoenfermedades del suelo como *Verticillium dahliae* e incluso nematodos, debido a su alto contenido en glucosinolatos (Alcántara et al., 2011).

La mayoría de los estudios sobre cubiertas vegetales, especialmente en el olivar español, están enfocados a confirmar no sólo que estas cubiertas pueden actuar reduciendo la erosión, sino que también evitan la pérdida de agua y nutrientes (García-Ruiz, 2010). No obstante, no existen muchos trabajos que enfoquen la cubierta vegetal como manejo para minimizar las pérdidas de plaguicidas de los suelos, las cuales son responsables con posterioridad de fenómenos de contaminación de aguas (White et al., 2009). Lo más parecido a este tipo de estudios son los realizados por algunos autores usando franjas vegetativas como filtros para plaguicidas, pero siempre en áreas que no presentaban una pendiente del terreno tan pronunciada como la observada en el olivar andaluz (Krutz et al., 2005; Vianello et al., 2005; Otto et al., 2012; Cardinali et al., 2013).

Teniendo en cuenta todos estos antecedentes, este estudio fue planteado para monitorizar la cantidad de herbicida que se perdía en las aguas y sedimentos en unas parcelas en las que se utilizaba el laboreo tradicional para mantener el

suelo desnudo. La interpretación de los resultados obtenidos, junto a los conocimientos existentes u obtenidos a nivel de laboratorio, nos han permitido determinar cuáles de los procesos adversos que provocan las pérdidas de herbicidas del suelo y la contaminación de las aguas podrían ser minimizados por el empleo de cubiertas. Para ello se han llevado a cabo unas experiencias de laboratorio en las que se ha comparado el comportamiento de los herbicidas bajo estudio en el suelo utilizado en el experimento de campo (laboreo tradicional) con un suelo de la misma finca experimental pero en el que se había mantenido una cubierta vegetal durante 8 años y a la que no se añadía herbicida. Los herbicidas empleados en este estudio han sido dos herbicidas ampliamente utilizados en el olivar y con muy distintas características físico-químicas, como son terbutilazina y oxifluorfen. Este estudio se ha llevado a cabo durante dos épocas de aplicación diferentes (otoño y primavera) a fin de establecer también la influencia o el papel de este factor en los procesos que conllevan a la presencia de estos herbicidas en las aguas.

III.2 OBJETIVOS

Los principales objetivos de este trabajo han sido fundamentalmente tres:

- Determinar cuál es la pérdida real, a nivel de campo, de terbutilazina y oxifluorfen, y su distribución entre suelo, agua y sedimento, en dos parcelas dedicadas al cultivo del olivar y sometidas a laboreo tradicional, y ver de qué modo se ve afectado el comportamiento de estos herbicidas en función de la época de aplicación y de sus propiedades físico-químicas. Para ello se ha realizado un seguimiento de estos herbicidas durante dos épocas de aplicación: primavera e invierno. Concretamente durante la aplicación de primavera sólo se ha realizado el seguimiento del herbicida

terbutilazina, mientras que durante la aplicación de invierno se ha realizado el seguimiento de terbutilazina y oxifluorfen. Este estudio se ha basado principalmente en realizar un muestreo de suelo, a la profundidad a la que es más susceptible de ser arrastrado por las escorrentías, y de aguas de escorrentías y sedimentos acumulados en tanques dispuestos al final de cada parcela.

- Determinar a nivel de laboratorio los diferentes procesos que pueden sufrir los herbicidas terbutilazina y oxifluorfen una vez que son aplicados al suelo, y como varían según el diferente sistema de cultivo al que ha estado sometido dicho suelo. Para ello se han utilizado dos suelos pertenecientes a la misma finca en la que se ha realizado el estudio de campo: uno de la parcela sometida a laboreo tradicional y otro de una parcela en la que se había establecido una cubierta vegetal desde hacía 8 años. Los estudios realizados a nivel de laboratorio han consistido fundamentalmente en estudios de adsorción, degradación y lixiviación. De este modo el estudio de los procesos que pueden sufrir estos herbicidas a escala de laboratorio nos permiten interpretar su comportamiento a nivel de campo.
- Relacionar el comportamiento observado en el campo sometido a laboreo tradicional con los procesos que son relevantes a nivel de laboratorio

III.3 MATERIALES

III.3.1 Localización y suelo

La evolución de terbutilazina y oxifluorfen en campo se ha estudiado en la finca Santa Marta localizada en el término municipal de Benacazón (Sevilla). En esta finca se estableció el cultivo del olivar en 1985 con marco de plantación 8 x 6

y variedad Gordal. Concretamente este trabajo se ha realizado en dos parcelas de 240 m² (8 x 60 m) cada una y con una pendiente del 11% (Figura III.1).



Figura III.1. Parcela sometida a laboreo tradicional (LT) en la finca Santa Marta de Benacazón (Sevilla)

Estas parcelas han sido sometidas a laboreo tradicional (LT) consistente en 2 o 3 pases de chisel al año, a una profundidad de 10-15 cm, dependiendo del estado de crecimiento de las malas hierbas. Para el estudio de los procesos en laboratorio se tomaron muestras de suelo a una profundidad de 0-20 cm de una de las parcelas sometidas a laboreo tradicional (LT) (Figura III. 1).

También se han tomado muestras de suelo de una parcela adyacente, dentro de la misma finca, en la que había establecido una cubierta vegetal (CV) (Figura III.2) de *Lolium (rigidum o multiflorum)*, dependiendo de la disponibilidad de semillas) durante 8 años y que fue manualmente sembrada a principios de cada otoño a una dosis de 100 kg por ha. Las muestras tomadas de ambos suelos

se llevaron al laboratorio y una vez allí se dejaron secar al aire para luego tamizar a través de un tamiz con una luz de malla de 2 mm. Las principales propiedades físico-químicas de los suelos se encuentran resumidas en la tabla III.3 y fueron determinadas por el Servicio de Análisis del IRNAS siguiendo la metodología habitual. Estas muestras de suelo se mantuvieron a -4°C hasta ser utilizadas en los distintos experimentos planificados.



Figura III.2. Parcela con cubierta vegetal (CV) en la finca Santa Marta de Benacazón (Sevilla)

Tabla III.3: Propiedades físico-químicas de los suelos de las parcelas LT y CV

Propiedades	Suelos	
	LT	CV
Arena (%)	56	61
Limo (%)	29	22
Arcilla (%)	14	16
Clase textural	Franco-arenosa	Franco-arenosa
pH (Ext 1:2.5)	8.53	8.58
CE (Ext 1:5) (mS/ cm)	0.092	0.106
CaCO ₃ (%)	27.22	23.82
Carbono Orgánico (%)	0.674	1.125
Materia Orgánica (%)	1.16	1.94
N Kjeldahl (%)	0.06	0.10

III.3.2 Herbicidas

Los herbicidas utilizados en este trabajo han sido terbutilazina (6-cloro-N-(1,1-dimetiletil)-N'-etil-1,3,5-triazina-2,2-diamina) perteneciente a la familia de las triazinas y oxifluorfen (2-cloro-1-(3-etoxi-4-nitrofenoxi)-4-(trifluorometil) benceno) perteneciente a la familia de los éteres difenílicos (Figura III.3). En el caso de terbutilazina se trata de un herbicida de amplio espectro que actúa en pre- y post-emergencia fundamentalmente por absorción a través de las raíces y cuyo modo de acción es inhibiendo el transporte de electrones durante la fotosíntesis. En la actualidad se aplica en maíz, sólo o mezclado con otros herbicidas como bromoxinil o S-Metolacoloro, y en algodón mezclado con otro herbicida como fluometuron; sin embargo al comienzo de este estudio seguía siendo un herbicida permitido en el olivar. Las principales características químicas de terbutilazina son una solubilidad en agua de 8.5 mg/l, peso molecular de 229.7

g/mol, $pK_a=2$ (base débil) y un coeficiente de partición octanol/agua (K_{ow} logP) de 3.21 (Tomlin, 2006). Respecto a oxifluorfen, se trata de un herbicida selectivo cuyo modo de acción es principalmente por contacto y más concretamente a través de las hojas (brotes), frente a la posible absorción por las raíces, ya que presenta muy baja capacidad de traslocación. Actúa inhibiendo a la enzima protoporfirinógeno-oxidasa provocando un daño irreversible en la membrana celular. Se utiliza principalmente en el control de malas hierbas anuales, tanto de hoja ancha como gramíneas, en un gran número de cultivos, en pre o post-emergencia precoz. Las principales características químicas de oxifluorfen son una baja solubilidad en agua (0.116 mg/l a 25°C), un peso molecular de 361.7 g/mol, y un coeficiente de partición octanol/agua (K_{ow} logP) de 4.47 (Tomlin, 2006).

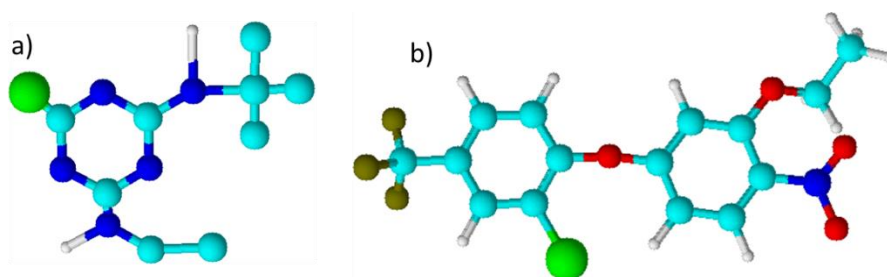


Figura III.3. a) Estructura molecular del herbicida terbutilazina; b) estructura molecular del herbicida oxifluorfen. (verde oliva= F; blanco= H; turquesa= C; rojo= O; azul= N; verde= Cl)

Para los estudios llevados a cabo en campo se han utilizado los productos comerciales Cuña (terbutilazina 50% p/v) y Goal Supreme (oxifluorfen 48% p/v), mientras que para los estudios en laboratorio se ha utilizado terbutilazina y oxifluorfen con una pureza del 98% suministrado por Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Alemania).

III.4 MÉTODOS

III.4.1 Estudio de campo

III.4.1.1 Aplicación y muestreo

Como ya se ha comentado en apartados anteriores, el estudio acerca de la evolución de terbutilazina y oxifluorfen en campo, se ha llevado a cabo en dos parcelas sometidas a laboreo tradicional (240 m²). Ambas parcelas han sido utilizadas como duplicados del tratamiento. En la Figura III.4 se encuentra representado un esquema de la superficie tratada y muestreada de cada parcela, así como la disposición de los tanques de recolección de las escorrentías. Previa a la aplicación de los herbicidas se tomaron muestras de suelo para cuantificar los posibles residuos de terbutilazina que pudieran existir en el suelo.

En Marzo de 2012 se realizó una aplicación de terbutilazina a la máxima dosis permitida de 2 l/ha con el producto comercial Cuña (50% p/v). A partir de este momento, haremos referencia a este tratamiento como el correspondiente a la aplicación de primavera. En Noviembre de 2012 se realizó un tratamiento con terbutilazina a la misma dosis que la campaña de primavera y con oxifluorfen a una dosis de 2 l/ha con el producto comercial Goal Supreme (48% p/v), correspondiente a la aplicación de invierno.

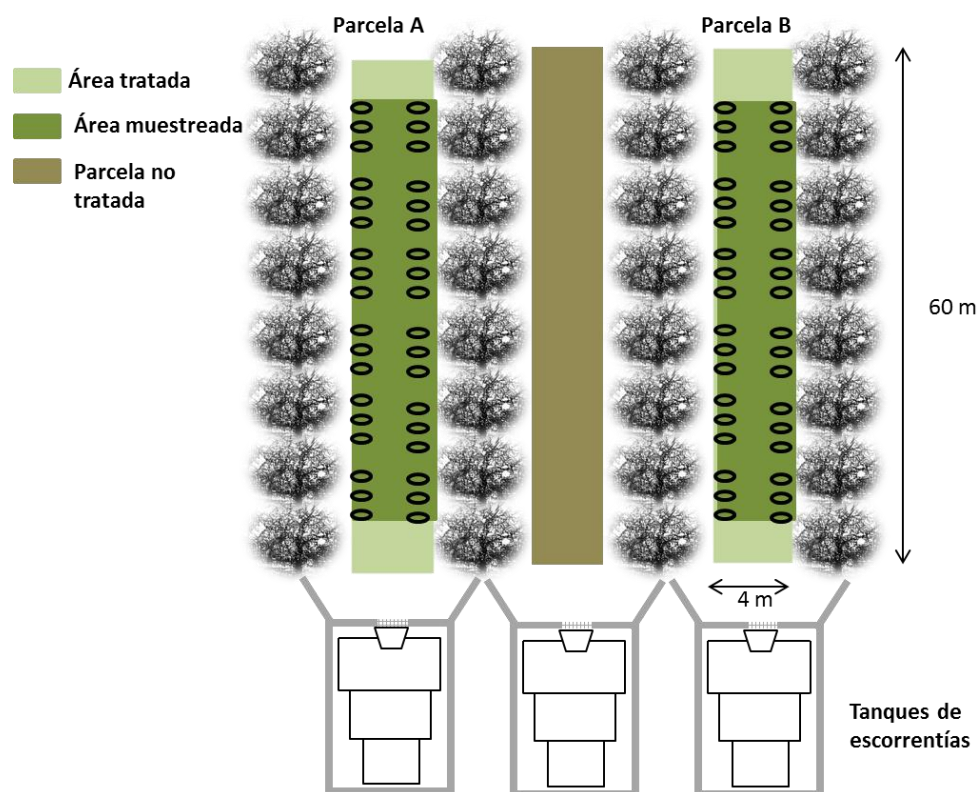


Figura III.4. Esquema de la superficie tratada y de la zona muestreada de cada parcela, así como la disposición de los tanques de escorrentías

Antes de realizar las distintas aplicaciones de los herbicidas, se colocaron discos de papel de filtro (12.5 cm) en el área de suelo a tratar (Figura III.4), dispuestos en zig-zag y que fueron recolectados inmediatamente después de la aplicación, con el objeto de conocer la dosis de herbicida exacta aplicada en las parcelas y así poder determinar la eficiencia de dicha aplicación. Los discos de papel de filtro humedecidos con el herbicida se introdujeron en viales de vidrio y una vez en el laboratorio fueron extraídos con metanol.

El muestreo de suelo durante las aplicaciones de primavera y de invierno se realizó a una profundidad de 2 cm mediante un muestreador de 2 cm de

profundidad y 6 cm de diámetro. Esta profundidad ha sido descrita como la más susceptible de ser arrastrada por las escorrentías generadas después de los eventos de lluvia (Ahuja y Lehman, 1983; Sharpley, 1985). La duración de este muestreo fue de 85 días en el caso de la aplicación de primavera y de 107 días en el caso de la aplicación de invierno. Tal y como se muestra en la Figura III.4, se tomaron tres muestras por árbol a una distancia de 2.5 m del tronco y espaciadas 1 m entre ellas, hasta un total de 12 árboles por parcela. Estas muestras de suelo se llevaron al laboratorio donde se limpiaron de restos vegetales y piedras, y de las tres muestras por árbol recogidas se tomaron 20 g de cada una de ellas mezclándose hasta obtener 60 g de una muestra de suelo compuesta de cada árbol. Estas muestras se mantuvieron congeladas a -4°C hasta proceder a la extracción del herbicida por duplicado de cada muestra compuesta.

Las escorrentías generadas en cada parcela después de cada evento de lluvia se recogieron en tres tanques de fibra de vidrio dispuestos al final de cada parcela. Este sistema de recolección disponía de un sistema regulador de flujo (proporción 1:15) que permitía medir hasta 110 m³ lo que equivale a 230 mm de escorrentía. Una vez nivelados los reguladores, se mantuvieron libres de hojas, pequeñas ramas y otros residuos orgánicos mediante una pequeña malla situada en la parte superior de la corriente de agua (Figura III.5). El lugar de experimentación se completó con una estación meteorológica automática. El muestreo de aguas y sedimentos acumulados en los tanques se midieron in situ después de cada evento importante de lluvia y las muestras bien mezcladas tanto de agua como sedimentos se llevaron al laboratorio para proceder a su análisis.



Figura III.5. Disposición de los tanques de esorrentía al final de cada parcela sometida a laboreo tradicional

III.4.2 Estudio de laboratorio

III.4.2.1 Isotherma de adsorción-desorción

Para el estudio de adsorción-desorción llevado a cabo en el laboratorio se pusieron en contacto 3g de cada uno de los suelos (LT y CV) por duplicado con 6 ml de una disolución de terbutilazina a diferentes concentraciones (0.5, 1, 5, 10, 15 y 20 μM). Se dejaron agitando durante 24h tras las cuales se centrifugaron a 5.000 r.p.m. durante 15 min. Se retiraron 3 ml de sobrenadante, los cuales sirvieron para analizar la concentración en equilibrio (C_e) por HPLC, asumiendo que las diferencias entre las concentraciones iniciales y finales de las diferentes soluciones eran debidas a procesos de adsorción, ya que el control sin suelo no mostró cambios en las concentraciones. A partir de estos datos se pudo calcular la

concentración de terbutilazina adsorbida en el suelo, y por tanto representar gráficamente la isoterma de adsorción, utilizando la siguiente ecuación (Ecuación III.1):

$$C_s = \frac{(C_i - C_e) V}{P} \quad (\text{Ec. III.1})$$

Donde C_s ($\mu\text{mol/g}$) es la concentración de herbicida adsorbido, C_i ($\mu\text{mol/ml}$) es la concentración inicial de la solución, C_e ($\mu\text{mol/ml}$) es la concentración en equilibrio después de las 24 h de agitación, V (ml) el volumen de solución utilizada y P (g) la cantidad de suelo pesado en los tubos. A partir de los valores de C_s y C_e se pudieron calcular los coeficientes de adsorción (K_f y N_f) ajustando dichos valores a la ecuación de Freundlich (Ecuación III.2):

$$C_s = K_f C_e^{N_f} \quad (\text{Ec. III.2})$$

El coeficiente K_f se define como el coeficiente de adsorción que corresponde a la cantidad de plaguicida adsorbido cuando C_e es igual a la unidad y se usa como un valor comparativo de la capacidad de adsorción, y N_f como la pendiente de la representación lineal de $\log C_s$ frente a $\log C_e$. También se ha calculado el valor de K_f normalizado en función del carbono orgánico ($K_{f_{oc}}$) dividiendo K_f por el contenido en carbono orgánico de los suelos.

En el caso del experimento de desorción, se realizó a partir del punto de máxima concentración (20 μM) para lo cual los 3 ml retirados del sobrenadante que sirvieron para medir la concentración de equilibrio en la adsorción fueron sustituidos por otros 3 ml de agua, se dejaron agitar durante 24 h y se centrifugaron a 5.000 r.p.m. durante 15 min. Este proceso se repitió tres veces con objeto de obtener tres puntos que nos pudieran permitir representar gráficamente la rama de desorción. En este caso se calculó el coeficiente de histéresis (H) que se define como el cociente entre N_f para la desorción ($N_{f_{des}}$) y N_f

para la adsorción (Nf_{ads}) (Barriuso et al., 1994) y cuyo valor puede oscilar entre 0, para procesos completamente irreversibles, y 1, cuando la isoterma de desorción sigue el mismo camino que el de la adsorción.

En el caso de oxifluorfen fue imposible realizar el estudio de adsorción-desorción debido a la baja solubilidad de este compuesto en agua (0.116 mg/l) ya que las concentraciones a medir en este estudio no podían ser analizadas con la técnica analítica de la que se disponía (HPLC).

III.4.2.2 Estudio de disipación

Para este experimento se han pesado 200 g de cada uno de los suelos (LT y CV) en botes de vidrio (Figura III.6), y se han añadido diferentes volúmenes de una disolución en etanol de terbutilazina (150 mg/l) y de una disolución en etanol de oxifluorfen (100 mg/l) equivalentes a la dosis aplicada en campo para cada caso. Después de equilibrar durante 1 h, la mitad de los suelos se mantuvieron con la humedad inicial que presentaban en el momento en que fueron tomados del campo, mientras que a la otra mitad de los suelos se le añadió agua equivalente al 40% de la capacidad de máxima de retención de los mismos. Todo el experimento se llevó a cabo por duplicado y en oscuridad, manteniendo la temperatura constante a 25°C. Se tomaron muestras a diferentes tiempos de incubación adicionando en cada momento la cantidad de agua suficiente para mantener los niveles de humedad establecidos al comienzo del experimento. Concretamente se tomaron 5 g de suelo en cada una de dichas tomas y se extrajeron con 10 ml de metanol para después proceder a su análisis por HPLC.



Figura III.6. Botes herméticos para la realización del experimento de disipación de terbutilazina y oxifluorfen.

III.4.2.3 Estudio de lixiviación

En este estudio hemos querido comprobar el movimiento de los herbicidas terbutilazina y oxifluorfen a lo largo del perfil de los suelos LT y CV para lo cual se han utilizado columnas de vidrio (20 cm longitud x 3 cm d.i.) que han sido empaquetadas manualmente con cada uno de dichos suelos (Figura III.7). En este caso se han realizado duplicados de cada tratamiento y en el que el proceso de empaquetado consistió en colocar lana de vidrio y 10 g de arena de mar en el fondo de la columna para evitar pérdidas de partículas de suelo. Después se pesaron 140 g de cada uno de los suelos y en la parte superior de la columna se volvió a colocar 10 g de arena de mar para permitir una distribución del herbicida lo más uniforme posible. Seguidamente se procedió a saturar las columnas con agua y se dejó drenar durante 24 h para después añadir el herbicida a la dosis de campo, es decir, 1 ml de terbutilazina y oxifluorfen 100 mg/l en metanol. Tras la aplicación de los herbicidas se añadió diariamente 15 ml de agua a cada una de las columnas recogiendo al día siguiente los lixiviados para posteriormente ser

analizados por HPLC. Este experimento se realizó a dos temperaturas, 5°C y 25°C, que corresponden con el rango de temperaturas que se alcanzan en otoño y en primavera tardía en el Sur de España.



Figura III.7. Columnas de suelo en las que se ha realizado el experimento de lixiviación de terbutilazina y oxifluorfen.

III.4.2.4 Estudio de porosidad

Con objeto de conocer las posibles diferencias en la porosidad de los suelos LT y CV, una vez finalizado el experimento de lixiviación, se ha utilizado la técnica de porosimetría por intrusión de mercurio. Esta se basa en la penetración de mercurio en los poros de un sólido a una presión inversamente proporcional al tamaño de los mismos. Esta técnica nos permite conocer el tamaño de poros que se encuentra en el rango de meso- ($1 < R_p < 25$ nm) y macroporos ($R_p > 25$ nm) de un sólido (Gregg y Sing, 1982). Para este trabajo se han tomado triplicados de

agregados del suelo de 1 g aproximadamente y se han dejado secar a 90°C durante 24 horas antes de realizar el análisis porosimétrico en un equipo Autopore 9510 (Autopore IV, Micromeritics). Mediante la ecuación de Washburn (1921) (Ecuación III.3) se va a relacionar la presión aplicada con el tamaño de los poros en el que penetra el mercurio:

$$R_p = -\frac{2\gamma\cos\theta}{p} \quad (\text{Ec. III.3})$$

Donde p es la presión que hay que aplicar para que se llenen de mercurio los poros con radio igual o superior a R_p ; γ es la tensión superficial del mercurio y θ su ángulo de contacto con el sólido. En nuestro caso se asume un valor de γ de 0.48 N/m y de θ de 171.3° a fin de poder aplicar la ecuación de Washburn y así obtener los datos que nos permitan representar gráficamente la distribución de tamaño de poro de nuestras muestras.

III.4.3 Extracción de herbicidas y condiciones analíticas

Para la extracción de los herbicidas en suelo, previamente se realizó una puesta a punto del método mediante una fortificación de 5 g de suelo, añadiéndole 1 ml de una disolución en metanol de terbutilazina y de oxifluorfen a diferentes concentraciones (10, 5, 1 y 0.5 mg/l) y dejando evaporar el metanol durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se procedió a extraer el suelo con metanol bajo las condiciones que se describen a continuación dando una eficiencia en la extracción del 94% ($n=12$) en el caso de terbutilazina y del 97% ($n=12$) en el caso de oxifluorfen. La extracción de terbutilazina y oxifluorfen de los suelos en los experimentos de disipación y lixiviación se ha llevado a cabo en una relación 1:2, es decir, 5g de suelo húmedo y 10 ml de metanol. Esta suspensión se puso a agitar durante 24 h y después se centrifugó 15 min a 8.000 r.p.m.,

tomándose una alícuota de sobrenadante para analizar por HPLC. Al mismo tiempo que se realizó la extracción se tomó una pequeña porción de suelo que después de 24h a 100°C nos permitió calcular el contenido en humedad y expresar los resultados en peso de suelo seco.

Los análisis de las muestras procedentes de los estudios de disipación en suelo realizado en campo, y de adsorción, incubación y lixiviación realizado en laboratorio, fueron hechos mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un equipo Waters (Milford, MA) 1525 conectado a un autoinyector 717 y a un detector de fotodiodos (PDA) 2996. Las muestras fueron filtradas mediante filtros de jeringa GHP Acrodisc de 0.45 µm antes de ser analizadas por cromatografía. La columna cromatográfica utilizada ha sido una Nova-Pack C18 (150 x 3.9 mm) con una fase móvil de 70:30 acetonitrilo/agua, 25 µl de volumen de inyección y una longitud de onda de 220 y 215 nm para terbutilazina y oxifluorfen, respectivamente. Los tiempos de retención fueron de 3 min para terbutilazina y 5.5 min para oxifluorfen. La recta de calibración se obtuvo mediante patrones externos en un rango de concentraciones de 0.05 a 1 mg/l a partir de la cual se realizó la cuantificación de las muestras con un coeficiente de correlación (R^2) de 0.99 y un valor medio de desviación estándar inferior al 20% para $n=3$. El límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) para terbutilazina y oxifluorfen se pudo establecer en 0.01 y 0.05 mg/l, respectivamente.

La extracción de los plaguicidas en aguas y sedimentos, así como su posterior análisis por GC-MS se llevó a cabo en el centro IFAPA, Alameda del Obispo (Córdoba). Se realizó un estudio previo para conocer la eficiencia de la extracción dando los siguientes resultados: en el caso de las muestras de agua dieron una eficiencia del 74% para terbutilazina y del 80% para oxifluorfen; en el caso de las muestras de sedimentos dieron una eficiencia del 90% para terbutilazina y del

92.5% para oxifluorfen. La eficiencia en la recuperación de terbutilazina y oxifluorfen en las muestras de agua fueron relativamente bajas comparada con las obtenidas por otros autores (Ferrer et al., 2000; Hernández et al., 2001). Las condiciones analíticas para ambos tipos de muestras son las siguientes:

- Para las muestras de agua se realizó una extracción líquido-líquido añadiendo 15 ml de diclorometano a 15 ml de muestra de agua y agitando 30 min. Esta solución se dejó decantar durante 24 h y se retiraron los 10 ml de diclorometano evaporándolos hasta sequedad mediante rotavapor. El extracto final se recuperó con 1 ml de ciclohexano y se analizó por GC-MS
- Para las muestras de sedimentos se tomaron 2 g de muestra de sedimento seco y se extrajo con 20 ml de acetonitrilo. Después de agitar durante 20 min, las muestras se centrifugaron 5 min a 4.200 r.p.m. y los sobrenadantes se retiraron para proceder a su evaporación hasta sequedad mediante rotavapor. El extracto final se recuperó con 2 ml de ciclohexano y se analizó por GC-MS.

El análisis de las muestras de agua y sedimentos se llevó a cabo mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) en un equipo CLARUS 500 (Perkin Elmer) realizando la separación cromatográfica mediante una columna Elite-5ms UI (30m×0.25mm, 0.25µm de grosor de película, Perkin Elmer). La temperatura del horno se mantuvo a 70°C, aumentando hasta 180°C durante 25°C/min, y manteniéndola durante 5 min para después volver a aumentar en modo rampa hasta 300°C a 12°C/min, manteniéndola de nuevo durante 5 min. Se mantuvo todo el proceso con un flujo de helio de 1 ml/min y un volumen de inyección de 4 µl. El análisis espectrométrico de masas se realizó mediante un simple cuadrupolo en un equipo Clarus Mass Spectrometer (Perkin Elmer) en

modo de ionización por impacto de electrón (EI). Las condiciones del MS fueron una temperatura de la fuente de 280°C y temperatura de la fuente del ión de 240°C. La curva de calibración se creó en base a seis puntos de diferentes concentraciones de terbutilazina y oxifluorfen que iban desde 0.01 hasta 1 µg/ml. El LOD y LOQ para terbutilazina y oxifluorfen en muestras de aguas se pudo establecer en 0.01 µg/ml y 0.02 µg/ml, respectivamente. El LOD y LOQ para terbutilazina en sedimentos se estableció en 0.01 µg/ml y 0.03 µg/ml, respectivamente y para oxifluorfen en 0.01 µg/ml y 0.02 µg/ml, respectivamente.

III.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.5.1 Estudio de campo

III.5.1.1 Pluviometría y estudio de erosión

Los datos de pluviometría, y la cantidad de agua y sedimentos procedente de las escorrentías, acumulados en los tanques durante las aplicaciones de primavera e invierno se encuentran resumidos en las Tablas III.4 y III. 5, respectivamente.

Tabla III.4: Cantidad de lluvia caída, y agua y sedimentos acumulados en los tanques, en las escorrentías producidas durante la aplicación de primavera

Días ^a	Lluvia (mm)	Agua (mm)	Sedimentos (t/ha)
30	41	0.89 (±0.385) ^b	2.45 (±0.624)
55	34	1.09 (±0.179)	3.57 (±0.330)
85	28	1.34 (±0.062)	2.36 (±0.437)
Total	103	3.32 (±0.626)	8.38 (±1.391)

^aDías tras la aplicación del herbicida; ^bError estándar (±)

Tabla III.5: Cantidad de lluvia caída, y agua y sedimentos acumulados en los tanques, en las escorrentías producidas durante la aplicación de invierno

Días ^a	Lluvia (mm)	Agua (mm)	Sedimentos (t/ha)
14	14	0.05 (± 0.009) ^b	0.98 (± 0.001)
22	10	0.02 (± 0.001)	- ^c
44	9	0.86 (± 0.004)	1.44 (± 0.004)
66	30	1.31 (± 0.026)	1.37 (± 0.003)
91	30	1.61 (± 0.015)	2.80 (± 0.001)
107	55	1.65 (± 0.066)	2.74 (± 0.004)
Total	148	5.50 (± 0.121)	9.33 (± 0.013)

^aDías tras la aplicación de los herbicidas; ^bError estándar (\pm); ^cSedimentos no acumulados en el tanque

En líneas generales, las cantidades de escorrentías medidas en este trabajo (agua y sedimentos) fueron relativamente pequeñas comparadas con otros estudios llevados a cabo en el mismo área (Gómez et al., 2009b). En el caso de la aplicación de primavera sólo se observaron tres eventos de lluvia importantes a lo largo del periodo de experimentación dando lugar a un total de 103 mm respecto a la aplicación de invierno en el que se produjeron 6 eventos de lluvia que supusieron un total de 148 mm, coincidiendo con el patrón normal de pluviometría de una zona con clima mediterráneo. La cantidad de agua acumulada en los tanques procedentes de las escorrentías fue de 3.32 mm al final de la aplicación de primavera y de 5.50 mm al final de la aplicación de invierno, lo que está de acuerdo con el mayor número de eventos de lluvia de esta última aplicación. Además, en el caso de la aplicación de invierno, eventos de poca pluviometría como el ocurrido a los 44 días (9 mm) tras la aplicación del herbicida generó una alta escorrentía (0.86 mm) comparado a los generados en la aplicación de primavera. Autores como Serrano-Muela (2008) han destacado la

importancia que tienen las condiciones previas de humedad del suelo respecto a las escorrentías producidas por las lluvias. Por ello, eventos de lluvia similares en primavera generaron menos escorrentías que las producidas en invierno, ya que las condiciones previas de sequedad del suelo por las altas temperaturas registradas, hacen que parte de las lluvias caídas en la aplicación de primavera se perdieran por infiltración (Gallart and Llorens, 2003).

Respecto a la cantidad de sedimentos producidos tras los fenómenos de escorrentías, fueron menores en la aplicación de primavera (8.38 t/ha) respecto a la aplicación de invierno (9.33 t/ha) (Tablas III.4 y III.5), lo que está de acuerdo con el patrón de lluvias ocurridas en ambas aplicaciones, mayor en invierno y menor en primavera. Aunque las diferencias existentes entre los sedimentos acumulados en ambas aplicaciones no son tan marcadas como las diferencias existentes entre las aguas de escorrentías, se observa que en la aplicación de primavera ante eventos de lluvia similares a la de invierno, los sedimentos generados son mayores. Esto podría ser debido al efecto de las labores que se realizaron previas a la aplicación del herbicida en primavera (Febrero), ya que se favorecerían las pérdidas de suelo después de eventos de lluvia importantes generando más cantidad de sedimentos que en la aplicación de invierno.

Los factores que juegan un importante papel en todo el proceso de erosión son muy diversos como el tipo de suelo, tipo de laboreo realizado, tipo y porcentaje de cubierta vegetal y erosividad de la lluvia (Casalí et al., 2010; Dunjó et al., 2004; Gómez et al., 2004, 2009a). El olivar presenta una serie de características intrínsecas (cultivo en pendiente, clima mediterráneo y suelos con bajo contenido en materia orgánica) que hace que presente una cierta disponibilidad a la erosión. Después de un estudio en diferentes ambientes mediterráneos, autores como Dunjó et al. (2004), encontraron que zonas cultivadas con olivos fueron las que más escorrentías y sedimentos generaron.

Se han llevado a cabo varios trabajos sobre el efecto del laboreo tradicional en la erosión del suelo, y su comparación con las cubiertas vegetales en el olivar (Gómez et al., 2004, 2009a, 2011). Existe una alta variabilidad en los resultados encontrados entre ambos sistemas de cultivo respecto las aguas de escorrentías y sedimentos producidos en función del tamaño de las parcelas o los eventos de lluvia ocurridos durante los años estudiados. Sin embargo, en general se han observado altas tasas de erosión bajo LT, fundamentalmente cuando el cultivo del olivo se había establecido en terrenos con pendientes entre el 4% y el 13.4%.

III.5.1.2 Evolución de plaguicidas en suelo

La evolución de terbutilazina durante la aplicación de primavera, y de terbutilazina y oxifluorfen durante la aplicación de invierno, en las parcelas sometidas a laboreo tradicional, expresada como porcentaje de herbicida extraído del suelo respecto al aplicado, se muestra en la Figura III.8. En estas mismas gráficas también se encuentran representados los distintos eventos de lluvia ocurridos durante ambas campañas. La toma de muestras en la aplicación de primavera (terbutilazina) se llevó a cabo hasta los 85 días después de dicha aplicación. En el caso de la aplicación de invierno (terbutilazina y oxifluorfen) la toma de muestras se realizó hasta la completa desaparición de terbutilazina, es decir, hasta los 107 días desde dicha aplicación.

La disipación de terbutilazina sigue la misma tendencia tanto en la aplicación de primavera como en la de invierno, es decir, la mayor desaparición del herbicida del suelo se produce después del primer evento importante de lluvia en ambas aplicaciones. En la de primavera, esta mayor desaparición (64%) se produce tras 30 días de la aplicación coincidiendo con 41 mm de lluvia caída,

mientras que en la de invierno ocurre tras 66 días de la aplicación del herbicida (84%) y corresponde a 30 mm de lluvia. Previa a la aplicación de los herbicidas en invierno se realizó una toma de muestras con el objeto de comprobar si existían residuos de terbutilazina en el suelo procedentes de la aplicación anterior y se confirmó que seguía permaneciendo en el suelo un 1.7% de terbutilazina respecto a la aplicación de primavera (215 días). En el caso de la aplicación de invierno, al final del experimento no se recuperó ningún residuo de terbutilazina en suelo (107 días).

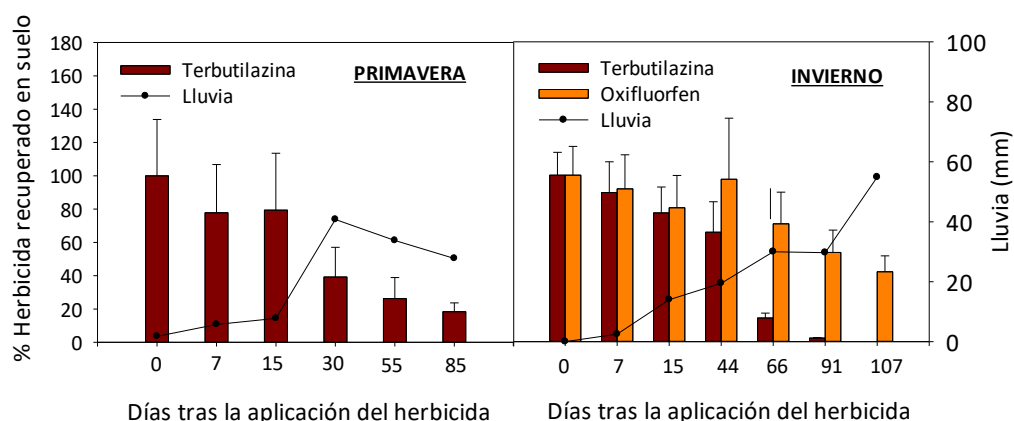


Figura III.8. Porcentajes de herbicida, respecto al aplicado, recuperado en los 2 cm superficiales del suelo, y lluvia caída durante las aplicaciones de primavera e invierno

Oxifluorfen presenta un comportamiento diferente al de terbutilazina, fundamentalmente por las diferentes características químicas respecto a éste último. Una de estas características es su baja solubilidad (0.116 mg/l), lo que se traduce en una baja movilidad y mayor persistencia en suelo, tal y como puede observarse en la Figura III.8. Este hecho es especialmente visible tras los 66 días de la aplicación de los herbicidas en el que aún permanece en el suelo el 68% del

oxifluorfen aplicado y al final del experimento (107 días) en el que permanece el 40% del aplicado. Aunque el estudio de la evolución de oxifluorfen sólo se ha realizado en la aplicación de invierno, trabajos previos llevados a cabo en nuestro laboratorio, nos hacen pensar que no existirían grandes diferencias respecto al comportamiento de oxifluorfen en otras épocas del año (Calderón et al., 2015).

Los datos obtenidos tras el análisis de terbutilazina y oxifluorfen en suelo durante las dos épocas de aplicación nos permitió conocer la cinética de disipación de estos herbicidas para lo cual se ajustó a una ecuación de primer orden (Ecuación III.4):

$$C = C_0 \cdot e^{-kt} \quad (\text{Ec. III.4})$$

Donde C representa la concentración de herbicida a tiempo t , C_0 es la concentración a $t=0$ y k es una constante que define la caída exponencial de la curva. El tiempo necesario para que la concentración de herbicida se reduzca a la mitad, es decir vida media (TD_{50}) puede calcularse si tenemos en cuenta que $C=C_0/2$, entonces (Ecuación III.5):

$$TD_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad (\text{Ec. III.5})$$

Las constantes cinéticas obtenidas tras el ajuste de los datos de disipación de terbutilazina y oxifluorfen a una cinética de primer orden, junto a los datos de vida media (TD_{50}) obtenidos a partir de dichas constantes se muestran en la Tabla III.6.

Los datos de la Tabla III.6 ponen de manifiesto la mayor persistencia de terbutilazina en la aplicación de primavera con una TD_{50} de 37 días, respecto a la aplicación de invierno con una TD_{50} de 18 días. Este hecho va a estar íntimamente ligado a la mayor pluviometría ocurrida en invierno, 148 mm, frente a los 103 mm de primavera (Tablas III.4 y III.5). Sin embargo, la mayor persistencia la presenta

58

oxifluorfen con un valor de TD_{50} de 99 días. Dichos resultados de TD_{50} , tanto para terbutilazina como para oxifluorfen, se encuentran dentro del rango de vidas medias encontrados en bibliografía (Tomlin, 2006).

Tabla III.6. Constantes del ajuste de los datos de disipación de terbutilazina y oxifluorfen en suelos sometidos a LT durante las aplicaciones de primavera e invierno a una cinética de primer orden (Ec. III.4 y III.5)

Constantes	Épocas de aplicación		
	Primavera	Invierno	
	Terbutilazina	Terbutilazina	Oxifluorfen
C_0	100±1.25 ^a	98±0.75	100±0.83
k	0.0187 (±0.0009)	0.0391 (±0.0076)	0.0070 (±0.0015)
R^2	0.988	0.867	0.816
TD_{50} (días)	37	18	99

^a ± Error estándar

III.5.1.3 Evolución de plaguicidas en escorrentías

Los porcentajes de terbutilazina y oxifluorfen recuperados respecto al aplicado en las aguas y sedimentos procedentes de las escorrentías durante las aplicaciones de primavera e invierno, se encuentran resumidos en las Tablas III.7 y III.8, respectivamente. Estos datos son coherentes con los valores de aguas y sedimentos, procedentes de escorrentías acumulados en los tanques (Tablas III.4 y III.5).

Tal y como se observó en el apartado anterior, las mayores cantidades de terbutilazina obtenidas en las aguas de escorrentías coinciden con el primer evento importante de lluvia ocurrido en ambas campañas, recuperándose un 0.12% a los 30 días tras la aplicación del herbicida en primavera y un 0.20% a los 66 días tras la aplicación en invierno. La mayor cantidad de terbutilazina en los sedimentos (0.35%) también va asociado a este mismo evento de lluvia (30 días) en el caso de la aplicación de primavera. No obstante, en el caso de invierno, el primer evento de lluvia importante tras los 66 días de la aplicación del herbicida no generó sedimentos, fundamentalmente por las razones aducidas en el apartado anterior, como son el sellado de la superficie del suelo y la formación de surcos.

Al final del estudio en ambas campañas, se recuperó más cantidad de terbutilazina en el caso de la aplicación invernal (0.53%) respecto a la de primavera (0.17%) en las aguas de escorrentías. Respecto a los sedimentos, se obtuvo la misma cantidad de terbutilazina en ambas aplicaciones (46%), ya que seguramente este valor va asociado al coeficiente de adsorción K_f de la terbutilazina para este sedimento. En ambos casos, aguas de escorrentías y sedimentos, las cantidades de terbutilazina encontradas son consistentes con los valores encontrados por otros autores como Müller et al. (2002) los cuales se encontraban en el rango del 0.15-1% del aplicado.

Se ha calculado también el coeficiente de distribución de los plaguicidas, K_d , asumiendo que existe un equilibrio en la concentración de plaguicida entre la fase acuosa y la fase sólida o sedimentos dentro de los tanques donde se acumulaban las escorrentías. Este coeficiente puede ser calculado utilizando la siguiente Ecuación (III.6):

$$K_d = C_s/C_a \quad (\text{Ec. III.6})$$

Donde C_s es la concentración de plaguicida en los sedimentos ($\mu\text{g/g}$) y C_a es la concentración de plaguicida en el agua ($\mu\text{g/ml}$).

Tabla III.7: Porcentajes de terbutilazina recuperada respecto a la aplicada en las aguas y sedimentos de escorrentías durante la aplicación de primavera

Días ^a	Terbutilazina		
	Agua (%)	Sedimentos (%)	Kd (ml/g)
30	0.12 (± 0.01) ^b	0.35 (± 0.04)	0.99
55	0.01 (± 0.00)	0.08 (± 0.00)	1.26
85	0.03 (± 0.00)	0.02 (± 0.00)	0.53
Total	0.17	0.45	0.93^c

^a Días tras la aplicación del herbicida; ^b \pm Error estándar; ^c Media de los valores de Kd

El primer valor de Kd para terbutilazina en la aplicación de primavera (Tabla III.7) indica que existe un equilibrio entre la cantidad de herbicida en la fase acuosa y en la fase sólida ($K_d=0.98$ ml/g), sin embargo a medida que pasa el tiempo existe un ligero desplazamiento hacia la fase sólida ($K_d= 1.26$ ml/g), coincidiendo con un mayor contenido en los sedimentos acumulados en los tanques, para finalizar a los 85 días tras la aplicación, con un desplazamiento hacia la fase acuosa ($K_d= 0.53$ ml/g) probablemente debido a la desorción con el tiempo de este herbicida de las partículas de sedimentos.

Tabla III.8: Porcentajes de terbutilazina y oxifluorfen recuperados respecto al aplicado, en aguas y sedimentos de escorrentías durante la aplicación de invierno

Días ^a	Terbutilazina			Oxifluorfen		
	Agua (%)	Sedimentos (%)	Kd (ml/g)	Agua (%)	Sedimentos (%)	Kd (ml/g)
14	0.09 (±0.00) ^b	0.23 (±0.01)	1.48	0.00 (±0.00)	3.83 (±0.23)	2586
22	0.00 (±0.00)	-	-	0.00 (±0.00)	-	-
44	0.17 (±0.00)	0.06 (±0.00)	2.16	0.01 (±0.00)	8.05 (±0.24)	3390
66	0.20 (±0.00)	-	-	0.01 (±0.00)	4.93 (±0.12)	4750
91	0.05 (±0.00)	0.13 (±0.02)	13.90	0.00 (±0.00)	3.56 (±0.10)	2179
107	0.02 (±0.00)	0.04 (±0.00)	10.10	0.01 (±0.00)	17.78 (±0.85)	7571
Total	0.53	0.46	1.57^b	0.03	38.15	3098^c

^a Días tras la aplicación del herbicida; ^b ±Error estándar; ^c Media de los valores de Kd

En el caso de la aplicación de invierno (Tabla III.8), el equilibrio en la concentración de terbutilazina siempre va a estar desplazado hacia la fase sólida (valores de $K_d > 1$) alcanzando los valores más altos a los 91 y 107 días tras la aplicación (13.90 y 10.10 ml/g, respectivamente), valores que van a ir asociados con la mayor cantidad de sedimentos acumulados en los tanques. A lo largo del experimento se comprueba una disminución de las concentraciones de

terbutilazina en ambas fases, sin embargo esta disminución es más pronunciada en la fase sólida que en la fase líquida, principalmente entre las dos últimas tomas, lo que indicaría que el menor valor de K_d en la última toma (107 días) respecto a la anterior (91 días) sea debida a fenómenos de desorción de terbutilazina de los sedimentos al igual que ocurría en el caso anterior.

En general estos valores de K_d son relativamente bajos comparados con otros herbicidas en condiciones similares, aunque se encuentran en el mismo rango de K_d encontrados por autores como Cabrera et al. (2008), poniendo de manifiesto la adsorción débil de terbutilazina lo que implica un alto riesgo de contaminación de aguas.

Haciendo un balance de lo recuperado en los primeros centímetros de suelo, y en las aguas y sedimentos procedentes de las escorrentías, se comprueba que al final del experimento llevado a cabo durante la aplicación de primavera (85 días) se ha perdido un 82% de la terbutilazina aplicada, mientras que en la aplicación invernal se ha perdido prácticamente la totalidad de este herbicida. Existen varios procesos que podrían ser los responsables de esas pérdidas entre los que destacan los fenómenos de adsorción, degradación y lixiviación. No obstante, las temperaturas bajas asociadas a la época invernal hacen que no se favorezcan procesos como adsorción o degradación lo que apunta a que las pérdidas de terbutilazina en esta época sean debidas a una mayor relevancia de los procesos de lixiviación

Las cantidades de oxifluorfen recuperadas en las aguas de escorrentías durante la aplicación invernal son muy bajas comparados con los obtenidos para terbutilazina, llegándose a recuperar sólo un 0.03% del aplicado al final del experimento (Tabla III.8), casi seis veces menos que terbutilazina. Estos datos ya corroboran la baja movilidad de oxifluorfen como consecuencia de su baja solubilidad. Los porcentajes recuperados en sedimentos son muy elevados respecto a terbutilazina, obteniéndose un total del 38.15% aplicado en los

sedimentos asociados a los fenómenos de escorrentías. La mayor concentración obtenida en sedimentos se corresponde con la última toma (17.78%) coincidiendo con el evento de máxima pluviometría de la aplicación de invierno. Esta alta cantidad de oxifluorfen asociada a los sedimentos son similares a los ya encontrados por otros autores (Mantzos et al., 2014), en condiciones climáticas parecidas (clima Mediterráneo) pero distintas condiciones agronómicas (cultivo del girasol y con pendientes que se encontraban en un rango entre el 1% y el 5%). Esto indica que existe una alta adsorción de oxifluorfen a las partículas de suelo, tal y como se ha demostrado en algunos trabajos (Wauchope et al., 1992; Yen et al., 2003; Calderón et al., 2015). Esta alta adsorción viene corroborada por los altos valores de K_d obtenidos para oxifluorfen, indicando que en el equilibrio de la concentración de oxifluorfen, ésta siempre tiende a la fase sólida frente a una casi despreciable y constante concentración de oxifluorfen en la fase líquida. El valor más alto de K_d (7571 ml/g) coincide con la última toma de muestras (107 días) coincidiendo con el evento de lluvia más importante (55 mm) llegándose a acumular en los tanques 131 kg de sedimento. Esto implica que una gran parte de las pérdidas de oxifluorfen en el olivar estarían asociadas fundamentalmente a fenómenos de escorrentías que llevarían oxifluorfen sólido sin disolver, disuelto y asociado a sedimentos. No obstante, estos valores de K_d son muy altos comparados con los valores obtenidos en otros estudios de adsorción de oxifluorfen en suelos (Yen et al., 2003; Alister et al., 2009; Hall et al., 2015; Calderón et al., 2015). Una posible explicación es la aportada por Wu et al. (2004), quienes encontraron que los sedimentos asociados a escorrentías estaban formados por una mayor fracción de partículas finas y agregados ricos en materia orgánica respecto a la superficie original del suelo, lo que incrementó significativamente los valores de K_d medidos para el fungicida propiconazol. No obstante, tampoco hay que olvidar la posibilidad de que la precipitación de

partículas de oxifluorfen sin disolver pudieran transportarse asociadas a las partículas de sedimentos.

Haciendo un balance, si al porcentaje de recuperación de oxifluorfen en sedimentos (17.78%) en esta última toma le sumamos lo recuperado en la extracción de suelo (42%) más lo que se recupera en las aguas de escorrentías (0.03%), tendríamos un 40% de oxifluorfen no recuperado, algo menor que la mitad de lo obtenido en el caso de terbutilazina. Esto podría deberse fundamentalmente a algunos de los procesos mencionados anteriormente como adsorción, degradación y/o lixiviación. De ahí la importancia de llevar a cabo un estudio a nivel de laboratorio de cada uno de estos procesos por separado con el fin de comprobar el papel que ejercerían cada uno de ellos sobre la disipación de terbutilazina y oxifluorfen en campo.

III.5.2 Estudios de laboratorio

A fin de arrojar luz sobre la relevancia de los diversos procesos aludidos en el apartado anterior en las pérdidas de terbutilazina y oxifluorfen no asociados a las escorrentías producidas en los experimentos de campo (LT), se realizaron estudios de laboratorio que permitían su calibración. A modo comparativo, también se ha incluido en dicho estudio el mismo suelo pero bajo un sistema de cubierta vegetal (CV) establecido durante 8 años, para comprobar si el propio suelo modificado por la cubierta tendría algún efecto sobre los mismos.

III.5.2.1 Isotermas de adsorción-desorción

En la Figura III.9 se encuentran representadas las isotermas de adsorción-desorción de terbutilazina en los dos suelos LT y CV, y en la Tabla III.9 se muestran las constantes resultantes del ajuste de las isotermas a la ecuación de Freundlich.

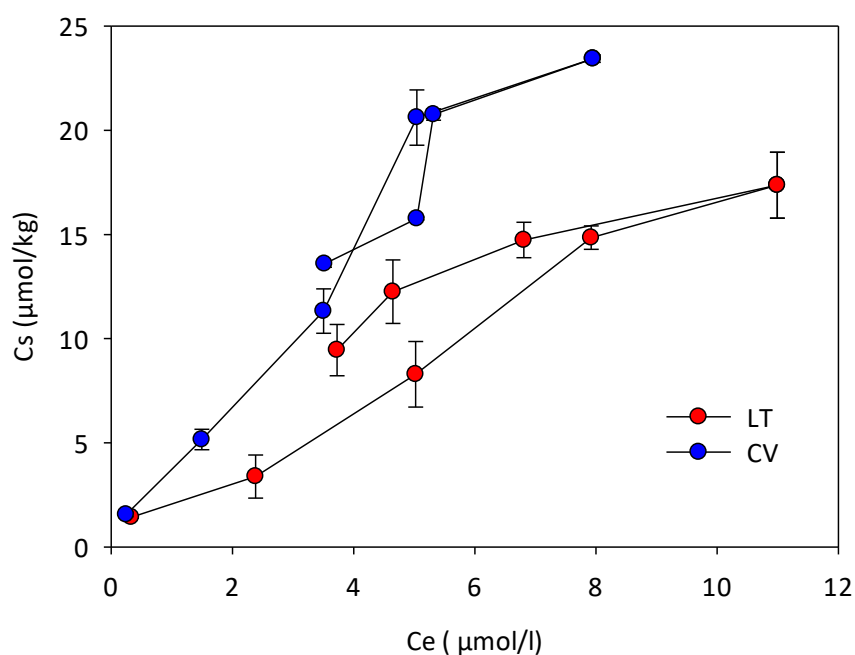


Figura III.9. Isotermas de adsorción-desorción de terbutilazina en los suelos LT y CV

Ambas isotermas se ajustan a una isoterma tipo L ($N_f < 1$) según la clasificación de Giles et al. (1960) mostrando una curvatura inicial que indica que a medida que transcurre la adsorción aumenta la dificultad para que las moléculas de soluto encuentren sitios de adsorción vacantes.

Tabla III.9. Coeficientes de Freundlich para la adsorción y la desorción de terbutilazina en los suelos LT y CC.

Coeficientes	Suelo	
	LT	CV
K _f	2.69 (2.26-3.21) ^a	4.48 (4.08-4.93)
N _f	0.73 (±0.10)	0.81 (±0.06)
R ²	0.944	0.981
K _{f_{OC}}	348 (293-417)	452 (412-497)
K _{f_d}	5.07 (4.19-6.12)	5.78 (4.06-8.22)
N _{f_d}	0.53 (±0.10)	0.68 (±0.21)
R _d ²	0.963	0.842
H	0.72	0.84

^aValor entre paréntesis corresponde al error estándar

Los valores de N_f son similares para ambas isothermas, 0.73 y 0.81 para LT y CV, respectivamente, lo que nos va a permitir poder compararlas. Lo primero que se observa es una mayor adsorción de terbutilazina al suelo CV respecto al suelo LT. Esto es debido principalmente al mayor contenido en materia orgánica del suelo CV respecto a LT, ya que los otros componentes del suelo implicados en los procesos de adsorción como son los minerales de arcilla permanecen invariables en ambos suelos (Tabla III.3). De hecho, de los valores de K_f ajustados al contenido de carbono orgánico de los suelos se obtiene lo que llamamos el índice de adsorción del carbono orgánico del suelo o K_{f_{OC}}, cuyos valores son del mismo orden aunque algo mayor en el suelo CV (452) respecto a LT (348). La cubierta vegetal favorece el incremento de la materia orgánica del suelo por distintas razones ampliamente estudiadas: evita las pérdidas de la M.O. asociada a sedimentos al disminuir la erosión (Gómez et al., 2011); aumenta los residuos orgánicos en el suelo procedentes de restos vegetales de la cubierta (Reicosky et

al., 1995); evitan el exceso de mineralización de la materia orgánica provocada por las labores (Lal, 2004) así como por los propios exudados radiculares (Zhang et al., 2011). Por todo esto, los fenómenos de adsorción a la materia orgánica del suelo se verán favorecidos bajo este sistema de cultivo (CV) para muchos plaguicidas, lo que puede constituir una verdadera barrera de retención que podría compensar sin duda la mayor infiltración que se produce en estos sistemas (Arora et al., 2010).

Las ramas de desorción representadas en la Figura III.9 indican que la desorción de terbutilazina en estos suelos es elevada, siendo ligeramente superior en el caso del suelo CV respecto a LT, tal y como se observa por los valores de K_d calculados (5.07 y 5.78 para LT y CV, respectivamente). Esta desorción está posiblemente favorecida por el mayor contenido en MOS del suelo que presenta cubierta vegetal respecto al suelo con laboreo, tal y como se muestra en los datos obtenidos tras el análisis de la MOS realizado durante el experimento de lixiviación (Figura III.12). En cualquier caso la alta desorción observada en ambos suelos viene explicada por los valores cercanos a 1 del coeficiente de histéresis (H), lo que indica una alta reversibilidad de la adsorción de terbutilazina a estos suelos. Esto tiene un impacto medioambiental negativo inmediato, y es que en el caso de terbutilazina se verían favorecidos en ambos suelos los procesos de lixiviación cuando la saturación de agua fuera muy alta, incluso en las capas más profundas del suelo, y por tanto la contaminación de aguas subterráneas, aunque siempre sería menor en el caso de CV dada la mayor retención en este suelo.

Aunque el estudio de adsorción-desorción no ha podido realizarse para oxifluorfen por las razones ya explicadas con anterioridad, en trabajos anteriores realizados por nuestro grupo y usando técnicas analíticas apropiadas, se ha observado una adsorción muy elevada de oxifluorfen al suelo (Calderón et al., 2015). Esta adsorción está íntimamente ligada a la fracción coloidal y activa del

suelo (materia orgánica y minerales de la arcilla) aunque no ha podido demostrarse con claridad la existencia de un papel predominante de un elemento sobre otro.

III.5.2.2 Estudio de disipación

En la Figura III.10 se representa la curva de disipación del herbicida terbutilazina en los suelos LT y CV a una temperatura constante de $\pm 25^{\circ}\text{C}$ y bajo dos contenidos en humedad diferentes, original y 40% de la capacidad máxima de retención de agua de ambos suelos.

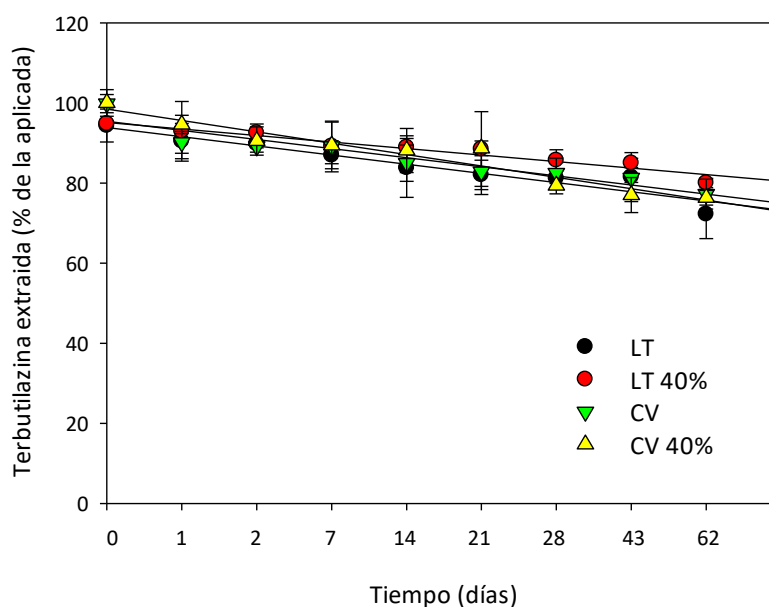


Figura III.10. Porcentajes de terbutilazina recuperada en el experimento de incubación en los suelos LT y CV a dos niveles de temperatura (original y 40% capacidad máxima de retención)

La disipación de terbutilazina parece ajustarse a una cinética de primer orden, donde el herbicida es co-metabolizado, es decir, no se utiliza como sustrato de crecimiento (Kearny et al., 1997). No obstante, por lo que puede observarse en dicha gráfica la degradación de terbutilazina no es muy elevada, además de no existir grandes diferencias entre los dos suelos estudiados y los diferentes contenidos en humedad de los mismos (72% LT, 80% LT 40%, 77% CV, 76% CV 40%).

Tabla III.10: Constantes del ajuste de los datos de disipación de terbutilazina en los suelos LT y CV a dos contenidos de humedad (original y 40% capacidad máxima de retención) a una cinética de primer orden

Constantes	Suelos			
	LT	LT 40%	CV	CV 40%
C_0	94.4±2	94.8±0.4	99.8±1	100±2
K	0.0035	0.0024	0.0030	0.0040
	(±0.0004)	(±0.0002)	(±0.0006)	(±0.0007)
R^2	0.880	0.933	0.749	0.833
TD_{50} (días)	198	289	231	173

Centrándonos en los valores de las constantes cinéticas obtenidas tras el ajuste de los datos de disipación a una cinética de primer orden (Tabla III.10) se comprueba que los valores de R^2 son superiores a 0.70 por lo que puede considerarse que la ecuación tiene un ajuste aceptable a una cinética de primer orden (Beulke y Brown, 2001). A partir de estos datos también se confirma la alta persistencia que presenta terbutilazina en estos suelos y a esos niveles de humedad, con valores de TD_{50} que van desde 173 hasta 289 días, respecto a los valores de TD_{50} encontrados para el estudio en campo (Tabla III.6). Esto es debido

fundamentalmente a que en campo existen más procesos implicados en la desaparición de terbutilazina como escorrentía, lixiviación, absorción por las plantas, etc., además del proceso de degradación, objeto de estudio en este apartado. Existen trabajos como el de Beulke et al. (2000) en el que han observado una sobreestimación de la TD_{50} esperada en campo a partir de los datos obtenidos en estudios estancos realizados en laboratorio.

A partir de este estudio de incubación en laboratorio se comprueba que el proceso de degradación sólo ha supuesto una desaparición del 23% del herbicida aplicado en ambos suelos y para los dos niveles de humedad estudiados. Probablemente realizar este experimento a más largo plazo nos hubiera permitido observar mayores diferencias entre ambos suelos en cuanto a la tendencia de degradación de terbutilazina. Sin embargo se ha comprobado que los valores de TD_{50} obtenidos en estudios de incubación de terbutilazina en suelos con características similares y durante más tiempo (190 días) son similares a los encontrados en este trabajo (Trigo, 2010). Puestos a analizar las ligeras diferencias encontradas entre ambos suelos y contenidos de humedad, éstas se centrarían en los valores de TD_{50} encontrados, que van a aumentar en el caso de LT o disminuir en el caso de CV en función del contenido en humedad. Esta tendencia podría tener relación con el mayor contenido en MOS observado en el suelo CV respecto a LT (Figura III.12), ya que se favorece la mayor reversibilidad de terbutilazina en CV respecto a LT, tal y como se ha explicado en el apartado anterior, y por tanto el proceso de biodegradación de este herbicida y su desaparición en dicho suelo. En cualquier caso, y teniendo en cuenta la duración de los experimentos de campo (85 días en primavera y 107 en invierno) y las correspondientes cantidades de terbutilazina no recuperadas (80% en primavera y 98% en invierno), a la degradación podría imputarse un 20-30% como máximo.

Los datos obtenidos en el estudio de incubación de oxifluorfen se encuentran representados en la Figura III.11.

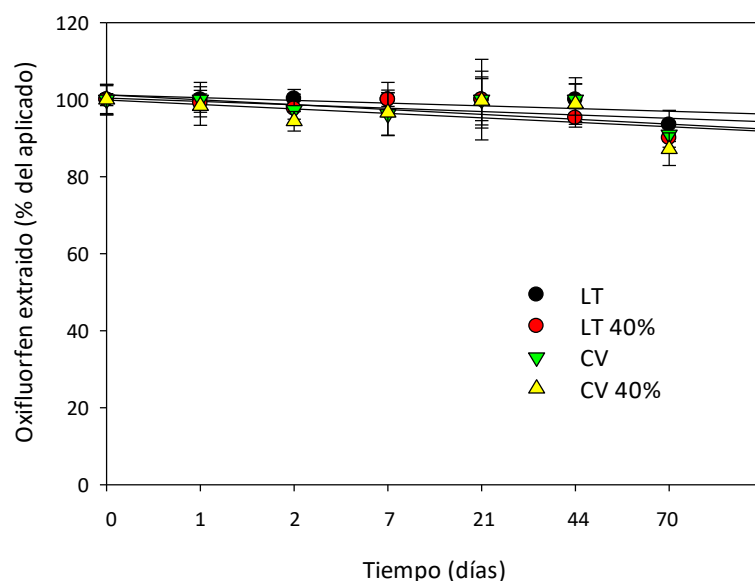


Figura III.11. Porcentajes de oxifluorfen recuperada en el experimento de incubación en los suelos LT y CV a dos niveles de temperatura (original y 40% capacidad máxima de retención)

Prácticamente no se observa disipación a lo largo del tiempo en el que se ha realizado el experimento, recuperándose al final de 70 días un 90% del herbicida aplicado en todos los casos. Al igual que ocurría con terbutilazina no se ha observado diferencias entre los suelos estudiados y los contenidos en humedad de los mismos. Además, ha sido imposible realizar un ajuste de estos datos a una ecuación de primer orden ya que los valores de R^2 obtenidos eran en todos los casos inferiores a 0.7. Esto viene a confirmar la alta persistencia ya observada en campo y que ha sido confirmada por varios autores (Martínez et al., 2004; Tomlin, 2006; Melo et al., 2010). Estos resultados ponen de manifiesto la

escasa importancia de los procesos de degradación en la desaparición de oxifluorfen en suelo a nivel de campo. También parece desprenderse de estos resultados que la incidencia de la CV en el suelo no tiene un efecto apreciable en la degradación de oxifluorfen y solo ligeramente en el caso de terbutilazina.

III.5.2.3 Estudio de lixiviación

Durante los primeros diez días se analizaron los contenidos en MOS de los lixiviados de las columnas mediante un equipo de TOC (Total Organic Carbon) y cuyos resultados se representan de forma acumulada en la Figura III.12. Se observa como el contenido en MOS lixiviada es superior en el suelo CV respecto a LT, dato que ya ha sido comprobado por otros autores como Premrov et al. (2012), los cuales encontraron un mayor contenido de MOS en aguas subterráneas en terrenos agrícolas en los que se mantuvo una cubierta vegetal (mostaza) durante tres años respecto a otras zonas en las que se mantuvo el suelo sin cubierta o con regeneración natural de la vegetación. Este hecho nos ha permitido explicar algunos de los resultados encontrados en experimentos anteriores realizados en laboratorio, como adsorción-desorción e incubaciones.

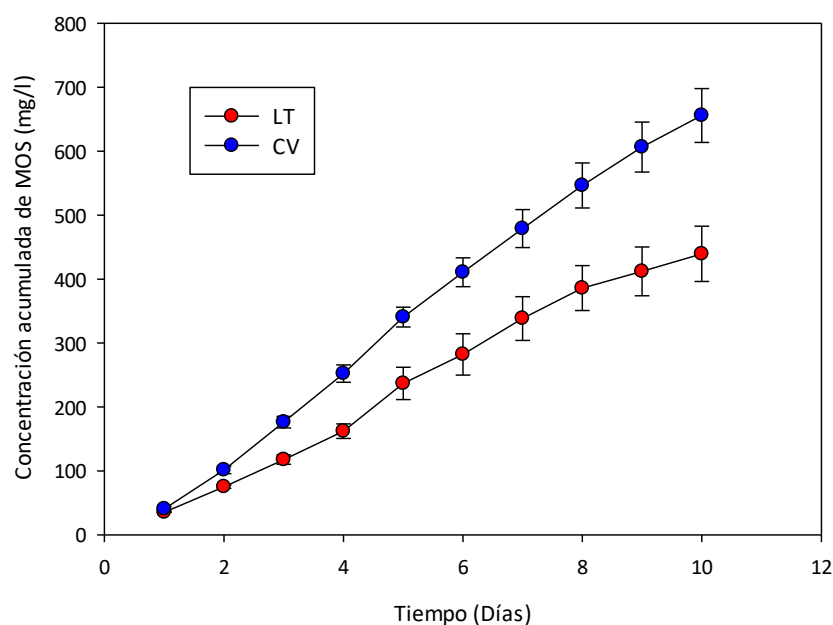


Figura III.12. Cantidad de MOS analizada en los lixiviados de las columnas de LT y CV durante los primeros 10 días del comienzo del experimento y de forma acumulada.

La Figura III.13 muestra las curvas de elución, tanto relativa como acumuladas, de terbutilazina en las columnas de suelo LT y CV a dos temperaturas (25°C y 5°C) mediante el análisis de los lixiviados obtenidos tras la adición diaria de 15 ml de agua durante 53 días. En las curvas de elución relativa (Figura III.13) podemos observar como el máximo de elución de terbutilazina se alcanza antes en el suelo LT respecto a CV, tanto a 25°C como a 5°C. Las concentraciones máximas obtenidas en las columnas a 25°C han sido de 0.29 mg/l correspondiente a un volumen de agua aplicado de 315 ml en LT y de 0.12 mg/l correspondiente a un volumen de agua aplicado de 525 ml en CV. En el caso de las columnas a 5°C, las concentraciones máximas analizadas han sido de 0.25 mg/l correspondiente a

un volumen de agua aplicado de 405 ml en LT y de 0.17 mg/l correspondiente a volumen de agua aplicado de 645 ml en CV. De modo que las máximas concentraciones siempre corresponden al suelo LT frente a los valores obtenidos en el suelo CV. En líneas generales, en el experimento llevado a cabo a 5°C la elución de terbutilazina en ambos suelos se ve ligeramente retrasada respecto al experimento a 25°C. No obstante, tanto a 25°C como a 5°C, la elución de terbutilazina es más rápida en el suelo LT que en el suelo CV.

En cuanto al total de terbutilazina eluida al final del experimento, ésta se encuentra representada en la curva de elución acumulada (Figura III.13) y puede comprobarse como el total de herbicida recuperada respecto a la aplicada es mayor en LT respecto a CV para ambas temperaturas estudiadas aunque la diferencia es mayor a 25°C que a 5°C. Concretamente se ha recuperado un 68% en LT y un 20% en CV, en el estudio llevado a cabo a 25°C, y un 69% en LT y un 41% en CV, en el experimento a 5°C. La elución de terbutilazina no se va a ver afectada en gran medida por la temperatura en el caso del suelo LT, aunque si ocurre antes a 25°C y con un pico máximo mayor. Sin embargo en el suelo CV la cantidad lixiviada es mayor cuando el experimento se ha realizado a baja temperatura frente al experimento realizado a una temperatura más alta. En cualquier caso, se hace patente la importancia del proceso de lixiviación para terbutilazina, en especial para suelos con LT, explicando los resultados obtenidos en aguas subterráneas durante el estudio de monitoreo realizado a lo largo del Valle del Guadalquivir (Hermosin et al., 2013).

En el caso de oxifluorfen no se obtuvo ningún residuo en los lixiviados por lo que fue imposible realizar una representación gráfica del estudio de lixiviación a ambas temperaturas.

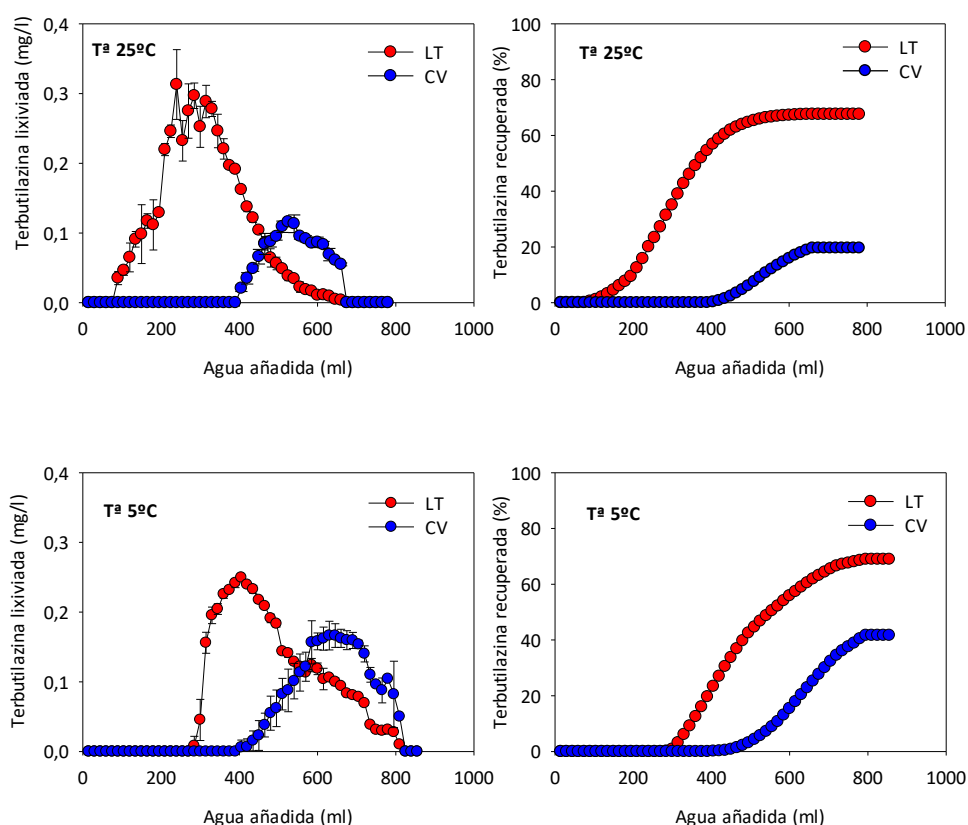


Figura III.13. Curvas de elución relativa y acumulada de terbutilazina en columnas de suelo empaquetadas manualmente y a dos temperaturas, 25° y 5° C.

Al finalizar el experimento de lixiviación se procedió a extraer con metanol los herbicidas (terbutilazina y oxifluorfen) que permanecían biodisponibles en el suelo, obteniéndose su distribución a lo largo del perfil de la columna, tal y como se muestra en la Figura III.14. El balance final de las cantidades lixiviadas, extraídas en el suelo y no recuperadas de herbicida durante el experimento de lixiviación se encuentra resumido en la Tabla III.11.

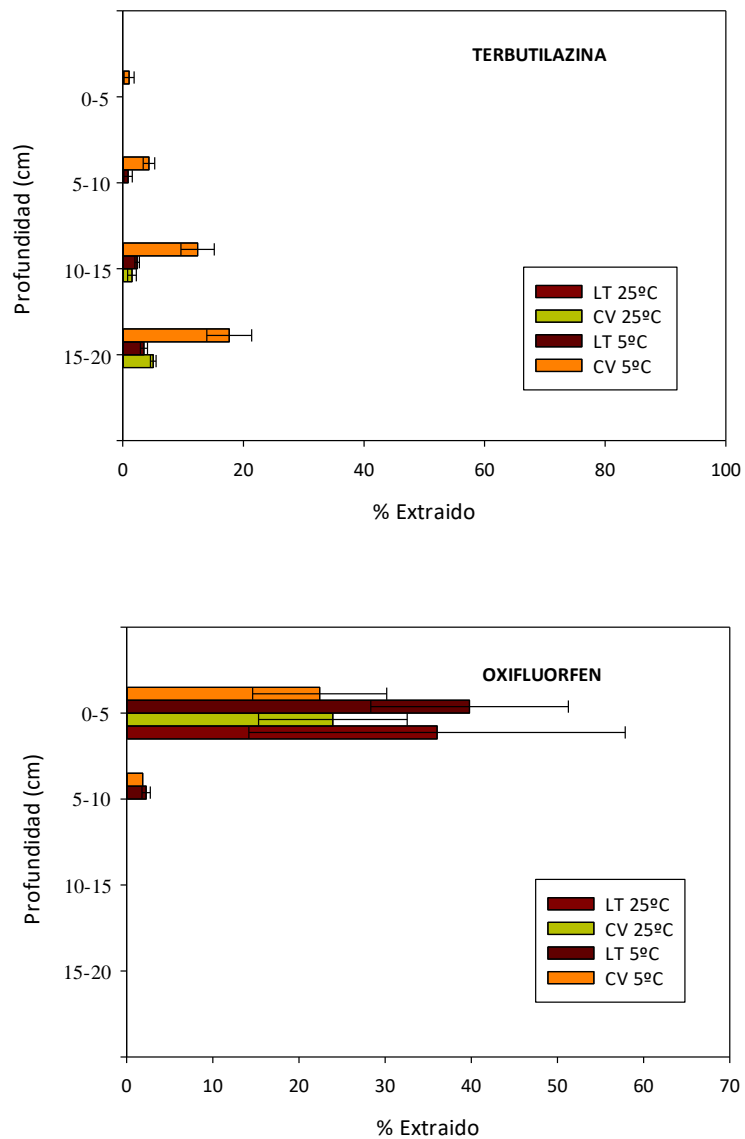


Figura III.14. Distribución de los herbicidas terbutilazina y oxifluorfen a lo largo del suelo tras finalizar el experimento de lixiviación en columnas empaquetadas manualmente

Tabla III.11. Total recuperado (%) de terbutilazina y oxifluorfen en el experimento de lixiviación en columnas empaquetadas manualmente

Temperatura		Terbutilazina		Oxyfluorfen	
		LT	CV	LT	CV
25º C	Lixiviados	68	20	0	0
	Ext. Suelo	0	7	36	24
	Total recuperado	68	27	36	24
	Total no recuperado	32	73	64	76
5º C	Lixiviados	69	41	0	0
	Ext. Suelo	7	35	42	24
	Total recuperado	76	76	42	24
	Total no recuperado	24	24	60	76

No se recuperó ningún residuo de terbutilazina en el experimento llevado a cabo en el suelo LT y a 25ºC, mientras que se recuperó un 7% de la terbutilazina aplicada en el suelo CV a 25ºC, los cuales se encontraban distribuidos en los últimos 10 cm (10-20 cm) de suelo, lo que está de acuerdo con la adsorción medida, que fue mayor para CV que para LT. En el experimento realizado a 5ºC se comprueba que las cantidades recuperadas en suelo son mayores en ambos suelos respecto al estudio a 25ºC, siendo superior en el caso de CV (35%) que en el caso de LT (7%). La distribución de estos residuos se produce en orden creciente desde los primeros cm de suelo hasta los últimos 20 cm, siendo más evidente en el caso de CV. Si nos fijamos en la cantidad no recuperada vemos que a 5ºC es menor que a 25ºC, por lo que los fenómenos de residuos recalcitrantes o degradación no son relevantes a temperaturas bajas. Sí, en cambio, deben serlo a 25ºC y más incluso en CV que en LT, ya que hemos visto que la degradación no varía sensiblemente en ambos tipos de suelos, por lo que estas diferencias deben estar más asociadas a residuos recalcitrantes por adsorción o retención, al ser mayores en el suelo CV que en el LT.

Observando la distribución del herbicida oxifluorfen a lo largo del perfil del suelo en el experimento de lixiviación se comprueba el comportamiento tan distinto que presenta respecto a terbutilazina (Figura III.14). Lo más llamativo es que permanece retenido en los primeros 5 cm de suelo lo que indica su baja o nula movilidad debido fundamentalmente a su baja solubilidad en agua respecto a terbutilazina. También se observa que las cantidades recuperadas en el suelo LT son superiores (36% y 42%, a 25°C y 5°C, respectivamente) comparadas con las recuperadas en el suelo CV (24%), aunque dichas cantidades no se van a ver afectadas por la temperatura a la que se ha realizado el experimento.

Centrándonos en las cantidades de herbicida no recuperado en el estudio de lixiviación se observa que la cantidad de terbutilazina no recuperada es mayor a 25°C que a 5°C y también es superior en CV respecto a LT. Ya se ha explicado que el mayor contenido en materia orgánica del suelo CV favorecería su adsorción, aunque ésta no se produzca de modo irreversible tal y como se ha confirmado en el estudio de adsorción. Sin embargo, aunque tampoco se ha visto durante el estudio de incubación una gran degradación de terbutilazina, en el caso del experimento de lixiviación, parece que las condiciones experimentales pueden haber propiciado cierta degradación ya que en el análisis de los lixiviados se han encontrado trazas de desetil-terbutilazina, principal metabolito de la degradación de terbutilazina en suelo (datos no mostrados). Dichos metabolitos se han encontrado tanto en el suelo LT como en CV, hecho que no se ha observado en el experimento de lixiviación a 5°C. La relación directamente proporcional que existe entre la temperatura y la humedad del suelo y la actividad microbiana ha sido ampliamente estudiada (Grayston et al., 2001). Por ello, en la cantidad de terbutilazina no recuperada tras la lixiviación además de jugar un papel importante la adsorción también habría que incluir ciertos fenómenos de degradación. Tal y como se ha discutido en apartados anteriores, la MOS del suelo

favorece la desorción de terbutilazina y por tanto su biodegradación por parte de los microorganismos, resultando más evidente en el suelo CV.

En cuanto a oxifluorfen, no existen diferencias entre las cantidades no recuperadas, tanto a temperaturas altas como bajas, aunque éstas van a ser, en general, superiores a las observadas para terbutilazina, lo que indica que el comportamiento de oxifluorfen en suelo no va a estar demasiado influenciada por la época de aplicación. Probablemente, en el caso de oxifluorfen, en la mayor cantidad de herbicida no recuperado, juegue un papel importante la adsorción irreversible a la materia orgánica (superior en CV), y por tanto la formación de residuos recalcitrantes. Este hecho ya ha sido puesto de manifiesto en estudios de adsorción de oxifluorfen en suelos con características similares (Calderón et al., 2015). No obstante esto no deja de ser un estudio de laboratorio en columnas empaquetadas a mano, donde la estructura natural del suelo en el campo queda destruida y es por ello por lo que se encuentra oxifluorfen en las aguas subterráneas (Hermosin et al., 2013), ya que además de la interacción con la matriz de los componentes del suelo, existen canales preferentes que permiten el transporte directo de las partículas sólidas o solubilizadas de oxifluorfen hacia capas más bajas (Cox et al., 1999; Ying y Williams, 2000)

III.5.2.4 Estudio de porosidad

Los residuos no recuperados de pesticidas o contaminantes en los suelos están relacionados con la adsorción fuerte o irreversible por enlace polar o químico, o a moléculas atrapadas en poros pequeños que a efecto de biodisponibilidad se comportan como si estuvieran fuertemente enlazados a la superficie del suelo (Pignatello y Xing, 1996). Por ello se realizó el estudio

porosimétrico en las muestras de suelo de las columnas después del experimento de lixiviación y cuyos resultados se muestran en las Figuras III.15 y III.16.

En estas figuras se puede observar que aunque el contenido total de poros en el rango estudiado (0.01-100 μm) es prácticamente el mismo en los dos suelos, el contenido de poros de radio entre 10 y 100 μm , o también denominados poros de transmisión, es mayor en el caso del suelo CV respecto a LT. Este tipo de poros son los que realmente permiten el movimiento tanto de aire como del agua, y por lo tanto a través de los cuales se establece el movimiento de plaguicidas. Uno de los efectos de las cubiertas vegetales es el aumento de los bioporos, es decir, aquellos poros que mejoran la difusión gaseosa y de agua dentro de un suelo, mejorando por tanto la actividad microbiana del mismo (Dabney et al., 2001). De hecho, algunos autores como Bronick y Lal (2005) han observado que aunque el laboreo tradicional aumenta a corto plazo la porosidad del suelo, a largo plazo disminuye la formación de agregados con todo lo que ello conlleva (disminución de la capacidad de almacenamiento de agua, disminución del contenido de carbono orgánico del suelo, aumento de la erosión, etc.). Sin embargo, aunque la porosidad, a nivel de poros de transmisión, se vea aumentada en el caso del suelo CV y por tanto aumente la movilidad de terbutilazina a lo largo del perfil del suelo, no hay que olvidar que el proceso de lixiviación en sí, si se ha visto reducido en el suelo CV respecto a LT, especialmente a 25°C. Como ya se ha comentado con anterioridad uno de los efectos del uso de la cubierta vegetal es el aumento de materia orgánica del suelo y esta sería la responsable en mayor medida de la retención de terbutilazina en el suelo CV mediante procesos de adsorción, lo que conlleva a una disminución de la lixiviación, más que a la retención en los microporos estancos como se ha observado en otros casos (Cabrera et al., 2007).

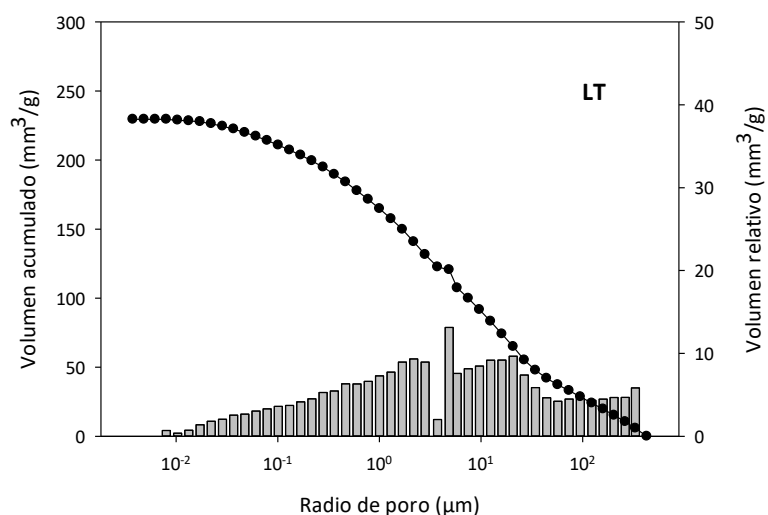


Figura III.15. Porosidad total y distribución según tamaño de poro del suelo LT después del estudio de lixiviación en columnas, medido mediante porosimetría por intrusión de mercurio.

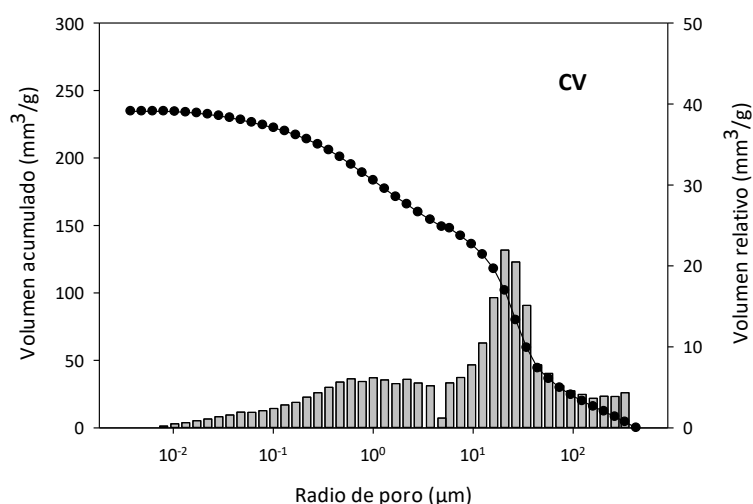


Figura III.16. Porosidad total y distribución según tamaño de poro del suelo CV después del estudio de lixiviación en columnas, medido mediante porosimetría por intrusión de mercurio.

III.6 CONCLUSIONES

1. La evolución de terbutilazina en los primeros 2 cm de suelo en las parcelas con laboreo tradicional está íntimamente ligada a los primeros eventos de lluvia, llegando a desaparecer prácticamente en su totalidad al final del experimento. La desaparición de este compuesto, especialmente en épocas invernales, se debe en gran medida a movimientos en profundidad a lo largo del perfil del suelo o procesos de lixiviación y menos a la escorrentía. En esta última se asocian más al agua que a los sedimentos, en parte por su pérdida por lixiviación y por sus características de mayor solubilidad y adsorción media al suelo.
2. La evolución de oxifluorfen en campo sigue una tendencia diferente a la de terbutilazina, fundamentalmente debido a las diferentes características químicas de ambos compuestos. La baja solubilidad de oxifluorfen provoca casi la inmovilidad en profundidad por lixiviación provocando una alta persistencia en los primeros centímetros del suelo, pero en cambio aumentan las pérdidas por escorrentías generadas por los procesos de lluvia. Las pérdidas por escorrentías de suelo aumentan de forma muy llamativa en los sedimentos, donde probablemente una parte de oxifluorfen está en forma de partículas sin disolver, otra parte se encuentra adsorbido fuertemente a los sedimentos y una muy pequeña proporción asociada a las aguas debido a su baja solubilidad.
3. A nivel de laboratorio, los estudios realizados comparando el comportamiento de terbutilazina y oxifluorfen en dos suelos dedicados a laboreo tradicional (LT) y con cubierta vegetal (CV) han demostrado que:
 - La adsorción de terbutilazina al suelo es mayor en CV que en LT por el mayor contenido en materia orgánica del primero, siendo dicha adsorción reversible en ambos casos.

- Los estudios de incubación indican una baja relevancia de los procesos degradativos en la desaparición de ambos compuestos en los dos suelos y a las temperaturas estudiadas
- El estudio de lixiviación pone de manifiesto la mayor movilidad de terbutilazina respecto a oxifluorfen, siendo en el primer caso mayor en el suelo LT que en CV. Además la movilidad de terbutilazina en el suelo LT es independiente de la temperatura, mientras que a temperaturas bajas aumenta en el suelo CV

Conclusión general: El potencial contaminante de terbutilazina en suelos con laboreo tradicional está ligado a procesos de lixiviación y en menor medida a la escorrentía mientras que el de oxifluorfen está más ligado a fenómenos de escorrentías, favoreciéndose la contaminación de aguas subterráneas y superficiales, respectivamente. Si bien, el flujo preferente a través de grietas puede provocar en ambos casos la contaminación de aguas subterráneas como ha sido constatado por monitoreo anterior. Las cubiertas vegetales pueden actuar como barreras y por tanto minimizar el potencial contaminante de los plaguicidas al disminuir el arrastre físico o escorrentías, tanto de agua como de sedimentos, y los herbicidas asociados a ambas fases, y aunque estas cubiertas favorecerían inicialmente la infiltración en los primeros centímetros, ésta se vería compensada gracias a los procesos de adsorción ligados al aumento de la materia orgánica del suelo generada por la propia cubierta.

*CAPÍTULO IV. USO DE ENMIENDAS
ORGÁNICAS DE COMPOST DE ALPERUJO
CON EL HERBICIDA OXIFLUORFEN*

IV.1 INTRODUCCIÓN

En los años 2001-2005, el periodo otoñal de lluvias en Andalucía fue muy abundante, lo que determinó la presencia de altas concentraciones de herbicidas en diversos pantanos de Andalucía (http://elpais.com/diario/2005/07/13/andalucia/1121206925_850215.html 2005). Este suceso no solo supuso una gran alarma social, sino que se llegó a crear una Comisión de las diversas Consejerías afectadas (Agricultura y Pesca, Medio Ambiente y Salud), que estudiaron y diseñaron medidas para poder paliar este problema en conexión con el Ministerio de Agricultura. Una de las medidas o pasos dados en este sentido, fue el de sustituir herbicidas que se habían estado utilizando en el olivar, como atrazina y simazina, por terbutilazina (año 2005). Con posterioridad, también se limitó el uso de diurón y la propia terbutilazina, a zonas alejadas de cursos o fuentes de agua, ya que efectivamente habían sido encontrados en cantidades superiores a los límites vigentes ($0.1 \mu\text{g/l}$) con respecto a sustancias activas, tanto en aguas superficiales como subterráneas (Hermosín et al., 2013). Las materias activas que se propusieron como sustitutas, eran principios activos menos solubles y con dosis de aplicación inferiores a las anteriores, lo que suponía, a priori, presentar un menor potencial contaminante. Una de las materias activas introducidas en el olivar y que cumplían estas características (baja solubilidad en agua y baja dosis de aplicación) fue oxifluorfen (Tomlin, 2006). No obstante, a pesar de este “teórico” menor potencial contaminante, se detectaron cantidades importantes ($> 0.1 \mu\text{g/l}$) de oxifluorfen en aguas superficiales y subterráneas como resultado de su uso en el olivar (Hermosín et al., 2013). Este hecho hizo plantearnos cuales eran los fenómenos que podía sufrir en el suelo un herbicida tan poco soluble en agua como oxifluorfen (0.116 mg/l), para que finalmente éste apareciera en las aguas. Hasta el momento existían pocos estudios que relacionaban los diferentes procesos que

podía sufrir oxifluorfen en el suelo y la forma en que estos influían en su presencia en las aguas, a excepción del realizado por Yen et al. (2003), llevado a cabo en condiciones climáticas y agronómicas muy diferentes a las de nuestra zona.

En la actualidad existen muchos trabajos en los que se han estudiado en profundidad los diferentes procesos y factores del suelo que están implicados en la presencia de plaguicidas en aguas (Bailey y White, 1970; Kookana et al., 1998; Arias-Estevez et al., 2008). Los principales procesos que ayudan a disminuir el potencial contaminante de aguas por parte de los plaguicidas, y que por tanto contribuyen a su desaparición son: a) formación de residuos fuertemente retenidos o “bound residues,” debido a adsorción irreversible, o por estar atrapados en poros del suelo de pequeño tamaño (Fadayomi y Warren, 1977; Pigantello y Xing, 1996), o enlazados fuertemente a grupos funcionales de los coloides; b) desaparición por cualquier proceso degradativo (químico, biológico o fotoquímico) (Arias-Estevez et al., 2008). Una estrategia a seguir y que va a favorecer los mecanismos de adsorción y por tanto minimizar los riesgos de contaminación de aguas (superficiales y subterráneas) va a ser el uso de enmiendas orgánicas (Cox et al., 1999b). Esta práctica mejora las propiedades físico-químicas del suelo aumentando el contenido en materia orgánica (Alburquerque et al., 2004), lo que es deseable en suelos tan empobrecidos y erosionados como en los que está establecido el cultivo del olivar en el sur de España.

En este trabajo nos vamos a centrar principalmente en el uso de alperujo, un residuo sólido resultante del proceso de extracción del aceite de oliva como enmienda orgánica. Se trata de una práctica bastante extendida al ser una forma fácil, sostenible y económica de reciclaje o economía circular, tal y como se conoce actualmente. Partiendo del hecho de que España, y concretamente Andalucía, es el mayor productor del mundo de aceite de oliva (Plan director del

olivar andaluz, 2015; Base de datos del Consejo Internacional del Olivo, 2015), las cantidades de residuos procedentes de almazaras son también enormes. Con el sistema actual de extracción de aceite en dos fases en las que se genera una fracción líquida (aceite de oliva) y otra sólida (alperujo), se llegan a producir aproximadamente más de 4.000.000 toneladas al año de un residuo difícil de eliminar y que supone un gran problema económico y medioambiental (Rodríguez-Lucena et al., 2010). De aquí que el uso de alperujo, una vez compostado, como enmienda orgánica suponga un modo ecológico, eficaz y barato de mejorar las propiedades de los suelos andaluces, además de poder controlar la posible contaminación del medio por parte de los plaguicidas, jugando un papel muy importante en el mantenimiento de los ecosistemas naturales (Abu-Zreig y Al-Widyan, 2002; Roig et al., 2006).

Con las enmiendas orgánicas se consigue un aumento de la adsorción de los plaguicidas en los suelos, lo que puede llevar implícito la protección de las moléculas orgánicas frente a la biodegradación y por tanto una mayor permanencia de estos compuestos en el suelo (López-Piñeiro et al., 2014), que de alguna manera ralentizaría o minimizaría su paso a las aguas. Entre este aporte de materia orgánica y la población microbiana del suelo se establece además una sinergia que se puede expresar de dos formas: a) aumentando la actividad microbiana y por tanto facilitando la degradación de plaguicidas en el suelo, lo que se traduciría en una disminución de la cantidad de herbicida susceptible de ser encontrado en las aguas (Rodríguez-Liébana et al., 2014; Álvarez-Martín et al., 2016); b) o por el contrario, haciendo que los microorganismos se alimenten de la fracción más lábil de esa M.O. y por tanto no degradando al herbicida, lo que implicaría un aumento de la persistencia de éste último (Fernandes et al. 2006) y, por tanto un aumento del riesgo de que el herbicida sea transportado a las aguas asociado a partículas de suelo (Moorman et al., 2001). También se puede dar el

proceso adverso como que la materia orgánica soluble (MOS) que acompaña a la enmienda se asocie por hidrofobicidad a la molécula de herbicida, aumentando así su solubilidad y facilitando su transporte en agua (Celis et al., 1998; Cox et al., 2000), o se llegue a un equilibrio en la competencia entre la MOS y la molécula de herbicida por los centros de adsorción de los coloides inorgánicos, que a su vez va a depender de la mineralogía de la fracción mineral del suelo (Celis et al., 1998; Gámiz et al., 2012)

Por todo ello el papel de la enmienda orgánica sobre el comportamiento en suelo de los herbicidas no es fácil de generalizar y hay que estudiar cada caso individualmente, ya que dicho comportamiento depende de diversos factores como las características propias del herbicida, del suelo y de la enmienda utilizada (Celis et al., 1998; Cox et al., 2000; Worrall et al., 2001; Albarrán et al., 2003; Fernandes et al., 2006; Cabrera et al., 2007; Cabrera et al., 2011; Gámiz et al., 2012). De aquí la importancia de estudiar los principales procesos que experimenta en el suelo un herbicida de aplicación reciente como oxifluorfen, y que sin embargo ya se ha encontrado no solo en aguas superficiales sino también en aguas subterráneas. Igualmente es importante comprobar cómo estos procesos se ven afectados a su vez por las enmiendas orgánicas realizadas con compost de alperujo, y si es posible dar recomendaciones al respecto, para mejorar su uso.

IV.2 OBJETIVOS

Se ha establecido como objetivo principal de esta investigación determinar a nivel de laboratorio los factores y procesos del suelo que determinan el comportamiento del herbicida oxifluorfen y como se ven afectados por la adición de compost de alperujo como enmienda, con el objeto de diseñar

posibles estrategias que sirvan para prevenir o al menos minimizar el potencial contaminante de aguas superficiales y subterráneas por este compuesto, como consecuencia de su uso en el cultivo del olivar en el sur de España. Este objetivo global supone:

1. Determinar la persistencia mediante el estudio de procesos de degradación (biológica, química o fotoquímica), adsorción-desorción y lixiviación en dos suelos de olivar de características muy diferentes y de localización distinta en los que se determinan diversos parámetros de interés implicados en estos procesos
2. Comprobar la influencia de la enmienda orgánica de los suelos con compost de alperujo, un residuo sólido procedente de la extracción del aceite de oliva, en el comportamiento de oxifluorfen en suelo.

Para la consecución de estos objetivos se van a realizar diferentes estudios a nivel de laboratorio con suelos originales y enmendados, entre los que se incluyen:

- a) Estudio de adsorción y desorción
- b) Estudio de fotodegradación
- c) Estudio de disipación
- d) Estudio de lixiviación

IV.3 MATERIALES

IV.3.1 Localización y suelo

Se han elegido para este trabajo dos suelos andaluces, ambos dedicados al cultivo del olivar: uno procedente de una finca experimental del IRNAS-CSIC



por un tamiz de 2 mm de luz con objeto de conseguir una mayor homogeneización de la mezcla. Tanto los suelos originales (P2 y SJ) como los enmendados (P2A y SJA) se almacenaron a 4°C hasta ser utilizados en los distintos experimentos.

IV.3.2 Herbicida

El herbicida utilizado en este trabajo ha sido oxifluorfen cuyas propiedades y estructura química ya fue descrita en el apartado III.3.2 del capítulo anterior (capítulo III). La dosis de aplicación del compuesto varía en función del cultivo pero suele estar dentro de un rango de 120 a 960 g de sustancia activa (s.a.) por hectárea. No obstante, en el caso del olivar, que es el cultivo sobre el que nos vamos a centrar en este trabajo, la dosis de aplicación varía entre 480-960 g s.a./ha si se aplica solo o 300 g s.a./ha, si se aplica junto a otro herbicida como es diflufenican. Para los estudios llevados a cabo en laboratorio se ha utilizado oxifluorfen con una pureza del 98% suministrado por Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Alemania). Para los estudios de adsorción se ha usado el compuesto marcado radiactivamente (oxifluorfen C¹⁴-UL-Ph-benzeno, actividad específica 10.2 mCi/mmol y pureza radioquímica del 99.6%) que fue amablemente donado por Dow Agroscience LLC, Indianapolis, IN.

IV.4 MÉTODOS

IV.4.1 Porosidad del suelo

Con objeto de conocer las posibles diferencias en la porosidad de los suelos enmendados y sin enmendar se ha utilizado la técnica de porosimetría por

intrusión de mercurio, cuyo fundamento ya fue descrito en el apartado III.4.2.4 (capítulo III).

IV.4.2 Isotherma de adsorción-desorción

Para el estudio de adsorción-desorción llevado a cabo en el laboratorio se ha utilizado el compuesto marcado radiactivamente (oxyfluorfen- C^{14}) disolviéndolo en metanol y tomando alícuotas para preparar las distintas soluciones en agua. Dichas soluciones han servido tanto para realizar un ensayo previo para conocer el tiempo de equilibrado (0.010 $\mu\text{g/ml}$), como para el propio estudio de adsorción-desorción (0.064, 0.035, 0.015 y 0.006 $\mu\text{g/ml}$). En el primer caso, se pesó 1 g de suelo P2 enmendado al que se le añadió 30 ml de la solución de oxifluorfen de concentración 0.010 $\mu\text{g/ml}$, se tomaron replicados a diferentes tiempos (0, 2, 4, 6 y 24 h), los cuales se centrifugaron a 1600 r.p.m. durante 30 minutos y se quitaron los sobrenadantes para ser analizados. A 3 ml de cada sobrenadante se le añadieron 15 ml de coctel de centelleo (EcoLite cocktail, ICN Biomedicals, Costa Mesa, CA) y después de una breve agitación en vortex, se determinó la cantidad de oxifluorfen marcado radiactivamente (C^{14}) mediante un contador de centelleo Packard 1500 (Packard Instruments, Downer Grove, IL). Para el experimento de adsorción se tomaron triplicados de 1 g de cada uno de los suelos (P2 y SJ, enmendados y sin enmendar) y se pesaron en tubos pyrex añadiéndole 30 ml de cada una de las soluciones preparadas con anterioridad. En este mismo experimento se usaron controles sin suelo para poder detectar posibles pérdidas y/o interferencias que pudieran ocurrir durante el ensayo. Las muestras se agitaron a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 h y después se centrifugaron a 1600 r.p.m. durante 30 min para posteriormente analizar los sobrenadantes, tal y como se ha descrito con anterioridad. Se asumió que las diferencias entre las

concentraciones iniciales y finales de las diferentes soluciones eran debidas a procesos de adsorción ya que el control sin suelo no mostró cambios en las concentraciones.

Para el experimento de desorción, éste se realizó a diferentes concentraciones iniciales para cada suelo (0.064 $\mu\text{g/ml}$ para P2 y P2A, y 0.035 $\mu\text{g/ml}$ para SJ y SJA) justo después del experimento de adsorción. Para lo cual se tomaron 20 ml de sobrenadante y se sustituyeron por 20 ml de agua, se dejó agitar durante 24 h y se centrifugaron los tubos para finalmente analizar el sobrenadante como ya se describió anteriormente. Este proceso se repitió tres veces con objeto de obtener tres puntos que nos pudieran permitir representar gráficamente la rama de desorción.

A partir de estos datos (adsorción y desorción) se calculó la concentración de oxifluorfen adsorbida y desorbida por el suelo y pudo representarse la isoterma de adsorción-desorción. Igualmente se calcularon los coeficientes de adsorción y desorción mediante la ecuación de Freundlich, así como el coeficiente de histéresis (H). Todos estos cálculos ya fueron descritos en el apartado III.4.2.1 del capítulo III.

IV.4.3 Fotodegradación

Previa a la realización del estudio de fotodegradación de oxifluorfen en suelo, se realizó un primer experimento de fotodegradación de oxifluorfen en una disolución al 100% de acetonitrilo y en otra disolución al 80% acetonitrilo/20% agua. El objeto de este tipo de ensayo era principalmente ver la rapidez a la que podía fotodegradarse este herbicida e intentar identificar algunos de los metabolitos producidos. Para ello se añadieron 100 ml de una disolución 50 $\mu\text{g/ml}$

de oxifluorfen, realizada tanto en acetonitrilo como en la mezcla acetonitrilo/agua, en matraces de cuarzo. Este estudio se llevó a cabo por duplicado, dejando uno de los matraces cubierto con papel de aluminio para evitar la acción de la radiación y el otro matraz con la disolución a la que se iba a someter a la irradiación. Dichos matraces se introdujeron en un fotoreactor Suntest CPS (Figura IV.2) (Heraeus Industrietechnik GmbH, Harnau, Germany) equipado con una lámpara de xenón y un filtro permanente con una longitud de onda seleccionada > 290 nm.



Figura IV.2: Fotoreactor Suntest CPS

Para el estudio de fotodegradación de oxifluorfen en suelo, 500 g de cada uno de los suelos (enmendados y sin enmendar) se esterilizaron mediante autoclave para prevenir la degradación microbiana. Aunque este método puede alterar la materia orgánica del suelo, otros tratamientos en los que se utiliza azida de sodio o antibióticos han resultado ser menos efectivos (Gimsing et al. 2006, Wang et al. 2008). Una vez esterilizados los suelos, a 300 g de cada uno de estos suelos se le adicionaron 30 ml de una disolución 10 mg/l de oxifluorfen disuelto en metanol, correspondiente a la dosis de campo (0.960 mg/kg). Una vez

evaporado el compuesto se le añadió a cada tipo de suelo una cantidad de agua (30%) a fin de obtener una pasta homogénea, de la cual se tomaron 15 g y se extendieron sobre 20 placas de vidrio de 5 x 10 cm y aproximadamente 1 mm de altura. La mitad de estas placas se mantuvieron en la oscuridad ya que sirvieron de control durante todo el experimento y la otra mitad fueron irradiadas en el mismo equipo descrito anteriormente. Durante el proceso de irradiación se mantuvo la humedad constante mediante nebulización manual de las placas y se tomaron muestras a diferentes tiempos (0, 5, 24, 48, 72 y 96 h) tanto de las muestras irradiadas como de las que estaban en oscuridad. La toma de muestra se realizó por triplicado, raspando 5 g de suelo de cada una de las placas y extrayendo con 10 ml de metanol para su posterior análisis por HPLC. Según varios autores (Cox et al. 1996; Romero et al. 1998; Aguer et al. 2000a; Albanis et al. 2002; Scrano et al. 2004; Sánchez et al. 2005) la diferencia entre la cantidad de herbicida desaparecida en el tiempo t en las muestras irradiadas y la cantidad que permanece en las muestras que están en la oscuridad se asume que ha sido debida a fotodegradación.

IV.4.4 Estudio de disipación

Para este experimento se han pesado 500 g de suelo enmendado (P2A y SJA) y sin enmendar (P2 y SJ) en botes de vidrio, tal y como se ha mostrado en la Figura III.6 del apartado III.4.2.2 (capítulo III). A cada uno de estos botes se han añadido 5 ml de una disolución 100 mg/l de oxifluorfen en etanol equivalente a la dosis de campo a cada uno de ellos. Después de equilibrar durante 1 h se aplicó agua hasta conseguir el 20% y el 40% de la capacidad de campo de cada suelo, tras lo cual se dejaron incubar en la oscuridad a 25°C. Se tomaron muestras a diferentes tiempos de incubación adicionando en cada momento la cantidad de

agua suficiente para mantener los niveles de humedad establecidos al comienzo del experimento. Concretamente se tomaron 10 g de suelo en cada una de dichas tomas y se extrajeron con 20 ml de metanol para después proceder a su análisis por HPLC.

IV.4.5 Estudio de lixiviación

En este estudio hemos querido comprobar el movimiento del herbicida oxifluorfen a lo largo del perfil del suelo para lo cual se han utilizado columnas de vidrio (20 cm longitud x 3 cm d.i.) que han sido empaquetadas manualmente con cada uno de los suelos en los que se centra este trabajo, es decir, enmendados (P2A y SJA) y sin enmendar (P2 y SJ). Se siguió el mismo protocolo de llenado de columnas que en el apartado III.4.2.3 (capítulo III) con la única diferencia que en este caso la cantidad de suelo utilizada para cada columna fue de 180 g. La dosis aplicada de oxifluorfen fue la correspondiente a la dosis de campo usando una disolución en metanol de oxifluorfen de 100 mg/l. Este experimento se realizó a dos temperaturas, 5°C y 25°C, que se corresponden con el rango de temperaturas que se alcanzan en otoño y en primavera tardía en el Sur de España.

IV.4.6 Análisis del herbicida

Previo al análisis de las muestras de suelo se realizó una prueba de eficiencia de la extracción, tal y como se describió en el apartado III.4.3, la cual dio unos resultados del 94% para el suelo SJ y del 99% para el suelo P2.

En función del experimento llevado a cabo se han utilizado diferentes técnicas analíticas, las cuales se resumen a continuación:

- En el caso del estudio de adsorción-desorción se ha utilizado un contador de centelleo líquido Packard 1500 (Packard Instruments, Downer Grove, IL) para determinar oxifluorfen marcado radiactivamente (C^{14}).
- Las muestras correspondientes a los estudios de fotodegradación, disipación y lixiviación se han analizado por HPLC usando el protocolo y el equipo descrito en el apartado III.4.3.

IV.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.5.1 Propiedades del suelo y porosidad

En la Tabla IV.1 se encuentran resumidas las principales propiedades del suelo que van a influir sobre el comportamiento de los plaguicidas en el suelo (Bailey y White, 1970; Kookana et al. 1998; Arias-Estévez et al., 2008), así como las propiedades que van a sufrir cambios después de la enmienda con compost de alperujo.

Tabla IV.1. Propiedades físico-químicas del suelo original (SJ y P2) y enmendado (SJA y P2A)

Suelo	pH	MO (%)	MOS (mg/kg)	Arcilla (%)	Limo (%)	Arena (%)	CO ₃ Ca (%)
SJ	8.1	1.8	112	51.6	42.1	6.3	33.0
P2	8.1	1.1	50	20.4	8.9	70.7	0.6
SJA	8.1	3.7	176	51.6	42.1	6.3	33.0
P2A	7.6	3.5	230	20.4	8.9	70.7	0.6
C. A. ^a	6.7	72.1	6820				

^a C.A.= Compost de Alperujo

El incremento en MO después de la enmienda con compost de alperujo es similar en ambos suelos, siendo quizás ligeramente superior en el suelo arenoso (P2). El pH no cambia en el suelo franco-arcilloso (SJ) tras la enmienda debido al alto contenido en carbonatos respecto al suelo arenoso (P2) en el que sí se observa una ligera disminución del pH. En cuanto a la materia orgánica soluble (MOS), se comprueba como la enmienda aumenta dicho contenido en ambos suelos, no obstante este incremento es ostensiblemente superior en el suelo P2 frente al suelo SJ, lo que indica una fuerte interacción entre la MOS y la fracción arcilla de los suelos. Este hecho es bastante importante ya que está relacionado con la naturaleza de la superficie del suelo que va a estar expuesto a moléculas de soluto como son los herbicidas (Celis et al., 2006; Cox et al., 2007).

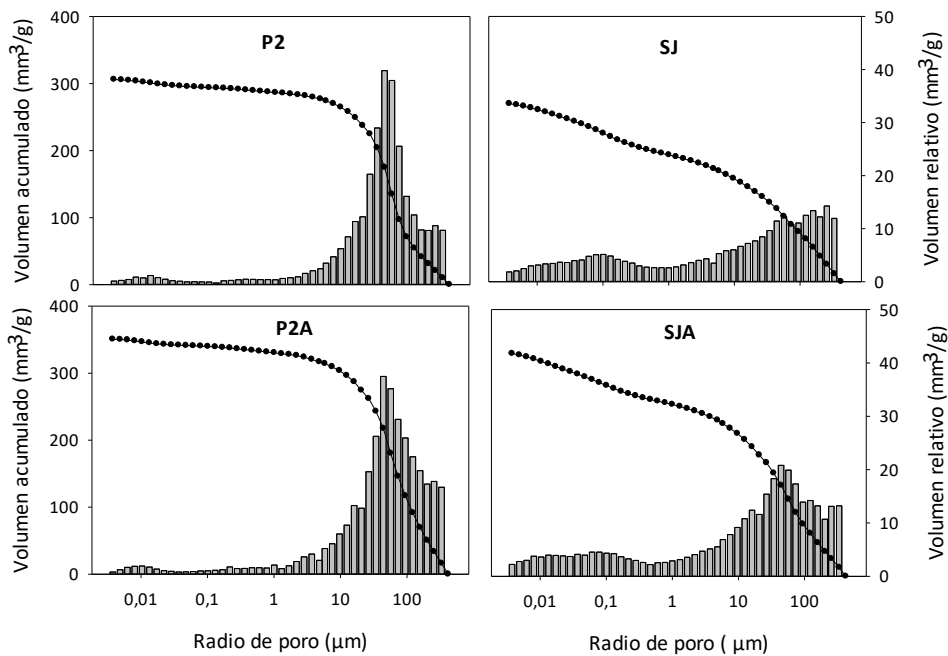


Figura IV.3: Porosidad total y distribución de tamaño de poro de los suelos P2 y SJ antes y después de la enmienda, medida por porosimetría de intrusión de mercurio.

En la Figura IV.3 se encuentran representados tanto el volumen total acumulado de poros de los suelos como su distribución frente al radio de poro. Se observa que el volumen total acumulado de volumen de poro es mayor en suelos con textura gruesa (P2) respecto a suelos con textura fina (SJ). La mayor porosidad del suelo P2 es principalmente debida a la mayor cantidad de poros de gran tamaño ($> 10 \mu\text{m}$), o poros de transmisión, los cuales suponen un 85% de la porosidad total de dicho suelo. El resto se distribuye equitativamente entre los poros de almacenamiento (tamaño $10-1 \mu\text{m}$) los cuales suponen un 7% del total y los poros residuales o de retención (tamaño $1-0.004 \mu\text{m}$) que representan un 8% del total. En el suelo SJ, los poros de tamaño $> 10 \mu\text{m}$ suponen sólo un 56% de la porosidad total del suelo, un 15% corresponde a los poros de tamaño comprendido entre 10 y $1 \mu\text{m}$ y el resto (29%) pertenece a los poros de menor tamaño o microporos ($1-0.004 \mu\text{m}$). Existe una relación inversa entre la alta porosidad a altos radios de poro y el contenido en arcilla ya previamente descrita por diversos autores (Cox et al., 1996; Albarrán et al., 2003; Celis et al., 2006).

Tabla IV.2. Volumen de poro (mm^3/g) y porcentaje para diferentes rangos de tamaños de poro del suelo original y enmendado, obtenido por porosimetría de mercurio.

Suelo	Macro y meso poros	Microporos				Total
		10-1	1-0.1	0.1-0.01	<0.01	
	$>10 \mu\text{m}$	μm	μm	μm	μm	
P2	263.0 (85%)	21.0	8.0	10.0	6.0	308.0
P2A	300.0 (85%)	26.0	10.5	8.5	8.0	353.0
SJ	155.0 (56%)	37.5	36.5	34.5	10.5	274.0
SJA	215.8 (64%)	42.5	30.0	35.2	13.5	337.0

Tanto en la Figura IV.3 como en la Tabla IV.2 se muestra como la porosidad total aumenta con la enmienda orgánica en ambos suelos, y que este aumento es menor en el suelo P2 que en el suelo SJ. Este incremento en la porosidad se debe principalmente a un desarrollo de poros de gran tamaño o poros conductores ($> 10 \mu\text{m}$). Sin embargo este aumento es mayor tras la enmienda en el suelo SJ (del 56% al 64%) que en el suelo P2, donde prácticamente no cambia la cantidad de macro y mesoporos después de la enmienda con compost de alperujo. Nuestros resultados son similares a los encontrados por Albarrán et al. (2003) en un suelo franco-arenoso después de enmendar al 10% con un alperujo sólido, al contrario de lo encontrado por Cox et al. (1997) en un suelo arcilloso rico en carbonatos después de enmendar con alperujo líquido. Las diferencias que existen en la cantidad de MOS de los suelos P2A y SJA podrían estar relacionadas con el diferente desarrollo de la porosidad en ambos suelos tras la enmienda, donde el mayor aumento de MOS lo ha sufrido el suelo P2 frente al suelo SJ (Tabla IV.1). Este hecho sugiere que podría existir una fuerte interacción de la MOS con los componentes del suelo SJ, concretamente con el mayor contenido en arcilla de éste, lo que a su vez podría estar relacionado con el mayor desarrollo de poros $> 10 \mu\text{m}$, y se confirma por el menor contenido en MOS del SJ tras enmendar en comparación con el suelo P2. Más aún, cuando esta interacción entre la MOS y la arcilla en el suelo SJA puede tener implicaciones en la naturaleza de la superficie de los distintos componentes del suelo y los poros (Cox et al., 1997, 2007; Celis et al., 2007). Este hecho vale la pena señalarlo, ya que revela la importancia tanto de la naturaleza del residuo orgánico como del tipo de suelo en los cambios resultantes en la porosidad del suelo e incluso en el balance del carácter órgano/mineral de la superficie de los componentes del suelo en contacto con la solución del mismo y que por tanto afecta en gran medida al proceso de adsorción del plaguicida por estos componentes coloidales.

IV.5.2 Isotherma de adsorción-desorción

En el estudio de la cinética de adsorción se ha observado una rápida adsorción de oxifluorfen al suelo, con un 60% adsorbido inmediatamente después de añadir la solución de herbicida, comparado con el 74% que se adsorbe después de 6 h de equilibrado. Por lo tanto, se han elegido 24 h como suficiente periodo de equilibrado para llevar a cabo los experimentos de adsorción.

En la Figura IV.4 se encuentra representada gráficamente la isoterma de adsorción y desorción del herbicida oxifluorfen en los diferentes suelos estudiados (P2, SJ, P2A y SJA) mientras que en la Tabla IV.3 se recopilan los coeficientes (K_f , N_f y R^2) resultantes del ajuste de dichas isothermas a la ecuación de Freundlich.

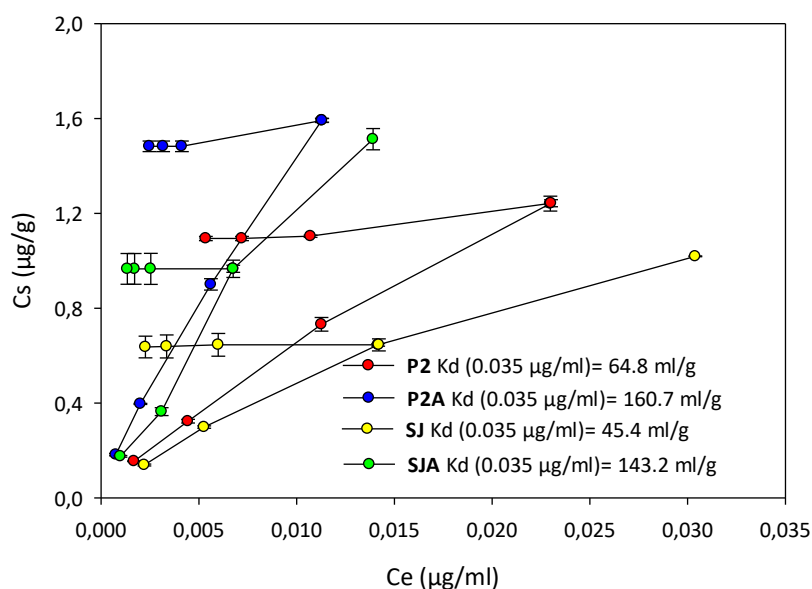


Figura IV.4: Isotherma de adsorción-desorción de oxifluorfen en los suelos originales (P2 y SJ) y en los suelos enmendados (P2A y SJA)

En la Figura IV.4 se encuentran además recogidos los valores de K_d a una concentración dada ($0.035 \mu\text{g/ml}$) lo que nos permite comparar el comportamiento de oxifluorfen en los distintos adsorbentes. Se puede confirmar entonces, tanto por los valores de K_d como por la representación gráfica de la isoterma, que la enmienda con alperujo de los suelos P2 y SJ favorece la adsorción de oxifluorfen respecto a los suelos originales. Proporcionalmente, este aumento de la adsorción tras la enmienda es el mismo para ambos suelos, es decir, el incremento en la adsorción de oxifluorfen del suelo P2 a P2A es prácticamente igual que el que se produce de SJ a SJA. No obstante cuando comparamos entre suelos, la adsorción de oxifluorfen parece ser ligeramente superior en el suelo P2 respecto al suelo SJ, especialmente en el suelo sin enmendar. Este dato resulta contradictorio respecto a los encontrados por otros autores (Wauchope et al., 1992) los cuales encuentran mayor adsorción de plaguicidas en suelos con mayor contenido en M.O. frente a suelos con menor contenido en dicho componente. Sin embargo, algunos autores como Kookana et al. (1992) han observado que suelos bien estructurados y con alto contenido en M.O. presentaban menor tasa de adsorción de algunos plaguicidas comparado con suelos dispersos que presentaban un menor contenido en M.O. Entre los pocos datos que existen en la literatura en cuanto a valores de K_d de oxifluorfen en suelo están los encontrados por Yen et al. (2003) que van de 52 a 755 ml/g en seis suelos diferentes a 25°C , el encontrado por Alister et al. (2009) de 13.7 ml/g en un suelo franco-arenoso y el encontrado por Hall et al., (2015) de 333-166 ml/g en suelos arcillosos y limo-arcilloso, respectivamente.

Centrándonos en los valores recogidos en la Tabla IV.3 se comprueba que los valores obtenidos en la isoterma de adsorción de oxifluorfen en los suelos enmendados y sin enmendar se ajustan bien a la ecuación de Freundlich ($R^2 > 0.99$). Los valores de la pendiente (N_f) son inferiores a la unidad lo que indica una

alta dependencia de la adsorción en función de la concentración inicial de la solución. Valores similares de N_f permitieron comparar los valores de K_f , los cuales indicaron que la enmienda con compost de alperujo aumentó la adsorción de oxifluorfen en ambos suelos, de 28 a 72 (suelo P2) y de 17 a 56 (suelo SJ), como consecuencia del incremento de la M.O. después de la adición del compost de alperujo. Tal y como se indicó anteriormente, existen pocos trabajos en la literatura que aporten datos de los coeficientes de adsorción de oxifluorfen en suelo, los cuales sugieren el papel predominante de la M.O. (Yen et al., 2003) o la asociación M.O.-arcilla (Scrano et al., 2004) en la retención de este herbicida en el suelo.

Tabla IV.3. Coeficientes de Freundlich para la adsorción y desorción de oxifluorfen en suelos

Suelo	K_f	N_f	R^2	K_{foc}	K_{fd}	N_{fd}	R^2	H
P2	28	0.82	0.99	7684	1.57	0.06	0.71	0.07
	(26-30) ^a	(±0.01)			(1.38-1.78)	(±0.03)		
P2A	72	0.87	0.99	4278	1.77	0.02	0.59	0.02
	(61-85)	(±0.03)			(1.66-1.89)	(±0.01)		
SJ	17	0.79	0.99	1598	0.84	0.02	0.65	0.02
	(14-22)	(±0.05)			(0.88-0.80)	(±0.01)		
SJA	56	0.85	0.99	2137	1.12	0.02	0.60	0.02
	(41-78)	(±0.05)			(1.07-1.18)	(±0.01)		

^a Valores en paréntesis corresponden al error estándar de los coeficientes

El aumento de la adsorción en suelo tras la enmienda con compost de alperujo ya fue encontrada por Albarrán et al., (2003) y Cabrera et al., (2007) para simazina y el tandem diurón-terbutilazina en suelos de similares características.

Los valores de K_f normalizados por el contenido en carbono orgánico (CO) del suelo (K_{foc}) mostró una considerable variabilidad (Tabla IV.3) lo que indica que el CO por sí sólo no explica las diferentes propiedades adsorbentes de un suelo (Celis et al., 2007). El diferente comportamiento de los valores de K_{foc} en ambos suelos y tras la enmienda, disminuyendo en P2 y aumentando en SJ, sugiere que la interacción de la MOS con la arcilla del suelo en SJ favorece la eficacia de la M.O. añadida al suelo sobre la adsorción de oxifluorfen, comparado con el suelo P2. El bajo valor de K_{foc} en los suelos SJ y SJA reveló que la fracción arcilla podría jugar un papel importante en la adsorción de oxifluorfen en estos suelos. El mayor valor de K_{foc} corresponde al suelo con menor contenido en arcilla (P2) donde la MO cobra relevancia, y de hecho sin enmendar es el que muestra mayor valor en este parámetro (K_{foc}). También hay un hecho relevante y es que mientras K_{foc} aumenta en el suelo SJ tras la enmienda (SJA), probablemente porque la asociación de arcilla-MOS hace aumentar la adsorción sobre estas superficies organominerales creadas, en el caso del P2 es justo al contrario, K_{foc} disminuye tras la enmienda, en este caso posiblemente la MOS esté compitiendo por los mismos sitios de adsorción que el herbicida y/o su mayor presencia en solución haga que se asocie o interaccione con la propia MOS permaneciendo en solución.

Las interacciones de la MOS con los plaguicidas están influenciadas por diversos factores como por ejemplo pH, propiedades del suelo, propiedades físico-químicas del plaguicida, y a interacciones entre plaguicida-suelo, plaguicida-MOS, y MOS-suelo. Esto conlleva a menudo a obtener resultados inconsistentes con respecto a la adsorción y al transporte de plaguicidas (Bolan et al., 2011)

La desorción de oxifluorfen de ambos suelos muestra una histéresis muy alta, es decir, la cantidad desorbida del total de herbicida adsorbido fue muy poca cantidad. Por otro lado, la adición de alperujo no afectó a la desorción de oxifluorfen del suelo, observándose que la alta histéresis de la adsorción-

desorción de este herbicida permaneció cerca de cero como se puede comprobar por los valores de H (Tabla IV.3).

IV.5.3 Fotodegradación

En la Figura IV.5 se representa la fotodegradación sufrida por oxifluorfen en acetonitrilo (100%) y en una mezcla acetonitrilo:agua (80%:20%). Partiendo del hecho de que no ha habido cambios en la disolución control que se ha mantenido en oscuridad, en dicha figura se observa que no existen diferencias significativas respecto a la fotodegradación de oxifluorfen en función del medio en el que va disuelto, con una vida media de 2.96 y 2.49 horas en acetonitrilo y en la mezcla acetonitrilo:agua, respectivamente. No obstante donde se han visto diferencias ha sido en el número de picos correspondientes a posibles metabolitos, una vez que se han medido las muestras por HPLC, destacando tres posibles metabolitos en acetonitrilo y 8 posibles metabolitos en la mezcla acetonitrilo:agua (datos no mostrados), de los cuales existe un pico mayoritario en ambos casos correspondiente a un tiempo de retención de 2.3 minutos. Autores como Ying y Williams (2000) observaron que existen metabolitos comunes cuando la fotodegradación de oxifluorfen se lleva a cabo tanto en medio acuoso como orgánico. Estos resultados preliminares indicarían que en presencia de agua, además del fenómeno de fotodegradación habrían implicados otros procesos como la hidrólisis, aunque en conjunto la tasa de degradación de oxifluorfen sea la misma en ambos medios.

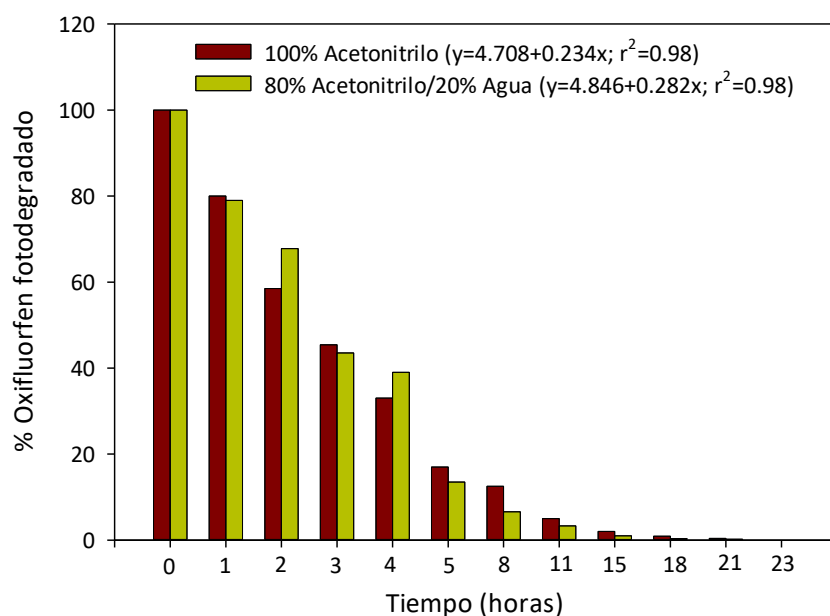


Figura IV.5: Oxifluorfen fotodegradado tanto en una disolución 100% acetonitrilo como en una disolución 80% acetonitrilo/20% agua después de 23 horas de irradiación

Con objeto de poder identificar ese posible metabolito común, tanto en acetonitrilo como en la mezcla acetonitrilo:agua, se han analizado por GC-MS/MS muestras de ambas disoluciones después de haber sido irradiadas durante 1 h, en las que aparecía el metabolito mayoritario previamente descrito. En la Figura IV.6 se representa el espectro de masas correspondiente a dicho compuesto en el que se observa un pico base de m/z 252 correspondiente a la pérdida de los grupos Cl, CH_2CH_3 y NO_2 y otro pico de m/z 333 correspondiente a la pérdida sólo del grupo CH_2CH_3 . Este metabolito coincide con uno de los encontrados por Scrano et al. (1999) tras realizar un experimento de fotodegradación de oxifluorfen en diferentes medios orgánicos, el cual se corresponde con el proceso de transformación del grupo etoxi en grupo hidroxilo. Aunque ha podido identificarse

dicho metabolito, la señal obtenida por GC-MS/MS de éste ha sido muy baja lo que nos ha dificultado la identificación del resto de posibles compuestos procedentes de la fotodegradación de oxifluorfen. En cualquier caso es importante destacar el incremento en la actividad herbicida de oxifluorfen con la exposición a la luz debido a la formación de compuestos más polares (e hidrofílicos) como el identificado en este experimento, tal y como han evidenciado autores como Scrano et al. (1999).

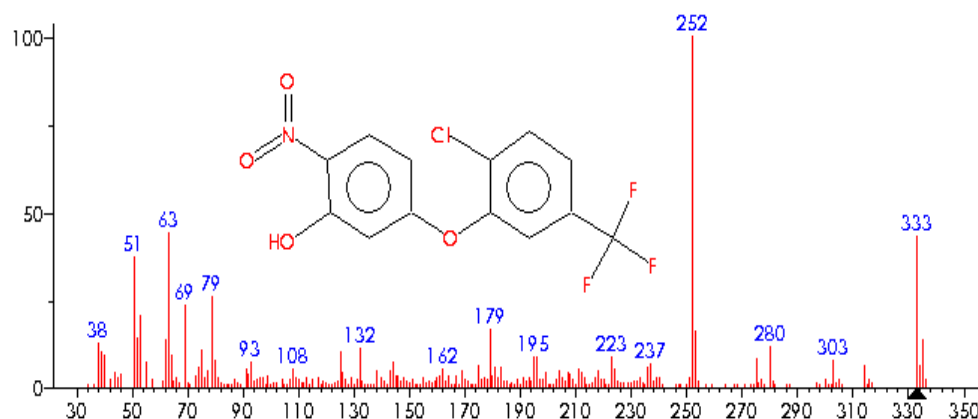


Figura IV.6. Espectro de masas del metabolito principal de oxifluorfen

Respecto a la fotodegradación de oxifluorfen en suelo, en las Figuras IV.7 (a y b) se encuentran representados los porcentajes de oxifluorfen recuperados en los suelos P2 y P2A, y en los suelos SJ y SJA, respectivamente, frente al tiempo de irradiación, incluyendo los correspondientes controles en oscuridad.

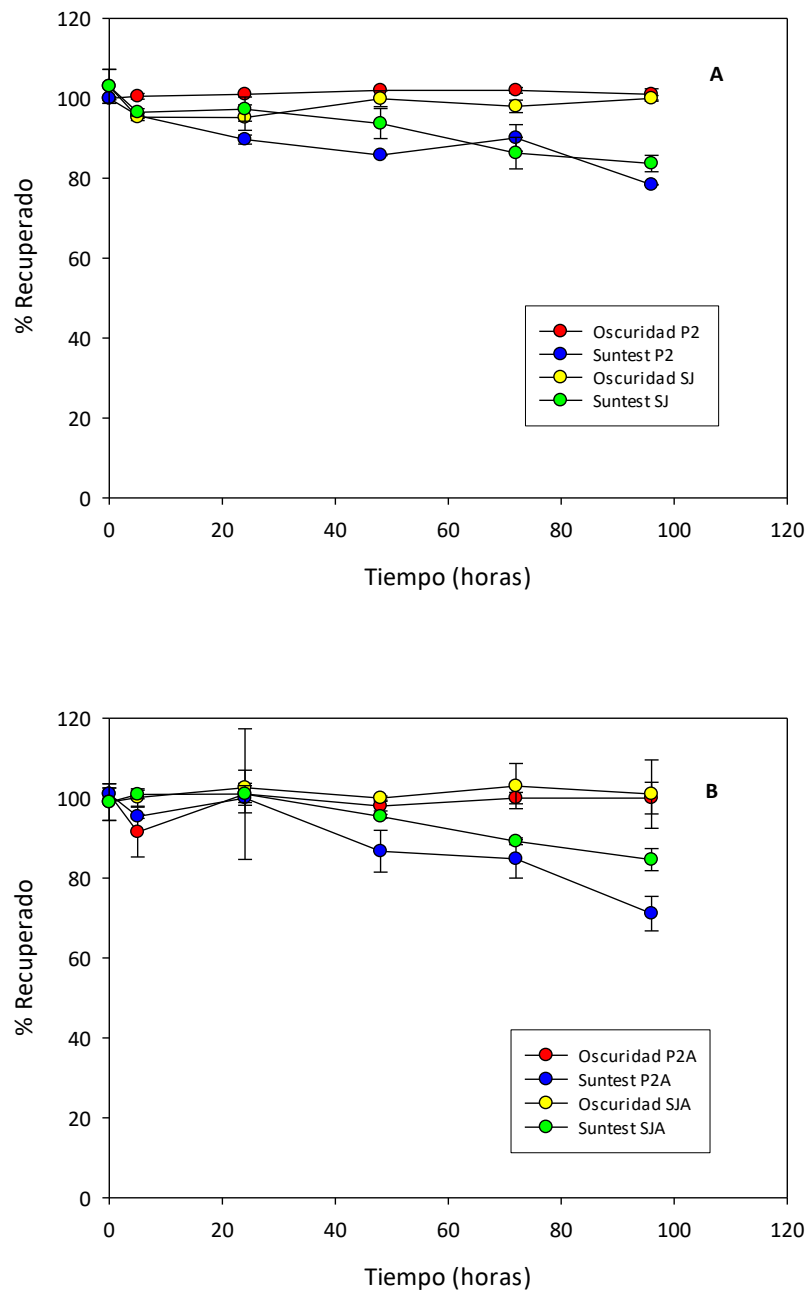


Figura IV.7: Cantidad de oxifluorfen recuperado después de 96 horas de irradiación en suelos originales (a) y enmendados (b)

Como se puede comprobar en dichas gráficas, no se observó degradación alguna de oxifluorfen durante el proceso de incubación en oscuridad, y también se pone de manifiesto que la fotodegradación no representa una vía importante de disipación de este herbicida en suelos, tanto originales como enmendados, después de 96 horas de irradiación con una lámpara de xenón. En este caso la identificación de metabolitos es prácticamente imposible debido a la baja tasa de fotodegradación y por tanto la mínima cantidad de oxifluorfen degradado para dar una señal perceptible que pudiera ser medida por GC-MS/MS. De la cantidad de herbicida añadido inicialmente, el 78% y el 71% fue recuperado del suelo P2 y P2A, respectivamente, mientras que el 85% fue recuperado de los suelos SJ y SJA. Nuestros datos están de acuerdo con los obtenidos por Scrano et al. (2004) con el mismo compuesto y con suelos con características similares. La baja degradación medida en todos los suelos (enmendados y sin enmendar) podría estar relacionado con la adsorción de oxifluorfen a la materia orgánica y a la fracción arcilla de los suelos (Tabla IV.1), aunque no se ve afectada de una manera significativa ni congruente por la adición de la enmienda. Ya en otros trabajos se ha demostrado que estos componentes del suelo pueden proteger a los herbicidas frente a la fotodegradación por procesos tanto de adsorción como por el efecto pantalla que ejercen sobre el plaguicida (Cox et al., 1996; Romero et al., 1998; Aguer et al. 2000a; Sánchez et al., 2005). De hecho, Cabrera et al. (2007) observó muy poca fotodegradación de diuron y terbutilazina, herbicidas también usados en el olivar para el control de malas hierbas, en los mismos suelos.

Respecto a la adición de compost de alperujo para realizar la enmienda de ambos suelos, se puede confirmar el inapreciable efecto que tiene sobre la fotodegradación de oxifluorfen, a pesar de haberse visto aumentada la adsorción de este compuesto a los suelos tras la enmienda (Tabla IV.3). Aunque algunos autores (Konstantinou et al., 2001) han comprobado como la fotólisis de algunos

contaminantes está íntimamente ligada a la adsorción de éstos a la M.O. del suelo así como a la formación de singletes de oxígeno, parece ser que la M.O. procedente del compost de alperujo no tiene el mismo efecto en nuestro caso. De hecho, Sánchez et al. (2005) no observaron ninguna alteración sobre la fotólisis de metidación tras la enmienda orgánica.

IV.5.4 Estudio de disipación

En este apartado se ha estudiado la incubación de oxifluorfen en los suelos (enmendados y sin enmendar) a dos niveles de humedad (20% y 40%), con el objeto de ver la disipación de este herbicida. En las Figuras IV.8 (a y b) se representan la cantidad de oxifluorfen desaparecido, como porcentaje del herbicida que permanece en el suelo, frente al tiempo. Estas curvas de disipación se han ajustado a una ecuación de primer orden y los parámetros para esta ecuación se encuentran recogidos en la Tabla IV.4.

En líneas generales se ha observado que tanto el tipo de suelo como el contenido en humedad van a influir en la disipación de oxifluorfen. En el caso de los suelos sin enmendar, la vida media (DT_{50}) a un nivel de humedad del 20% fue de 75.1 días en SJ y de 39.8 días en P2 (Tabla IV.4, Figura IV.8a). La disipación de oxifluorfen es, al menos parcialmente, debida a degradación microbiana y por tanto depende de la accesibilidad de este compuesto químico a los microorganismos. De acuerdo a esto, las distintas tasas de degradación de oxifluorfen podrían ser debidas a las diferencias inherentes a las propias poblaciones microbianas y a su actividad, y a la fuerza con la que este herbicida es adsorbido en el suelo. Aunque en nuestro caso, a pesar de que la adsorción en el suelo SJ es ligeramente inferior al suelo P2, existe una mayor degradación en éste último. Probablemente, las diferencias entre las adsorciones de oxifluorfen en

estos suelos (SJ y P2) no sean significativas como para resultar determinantes en la degradación de este compuesto.

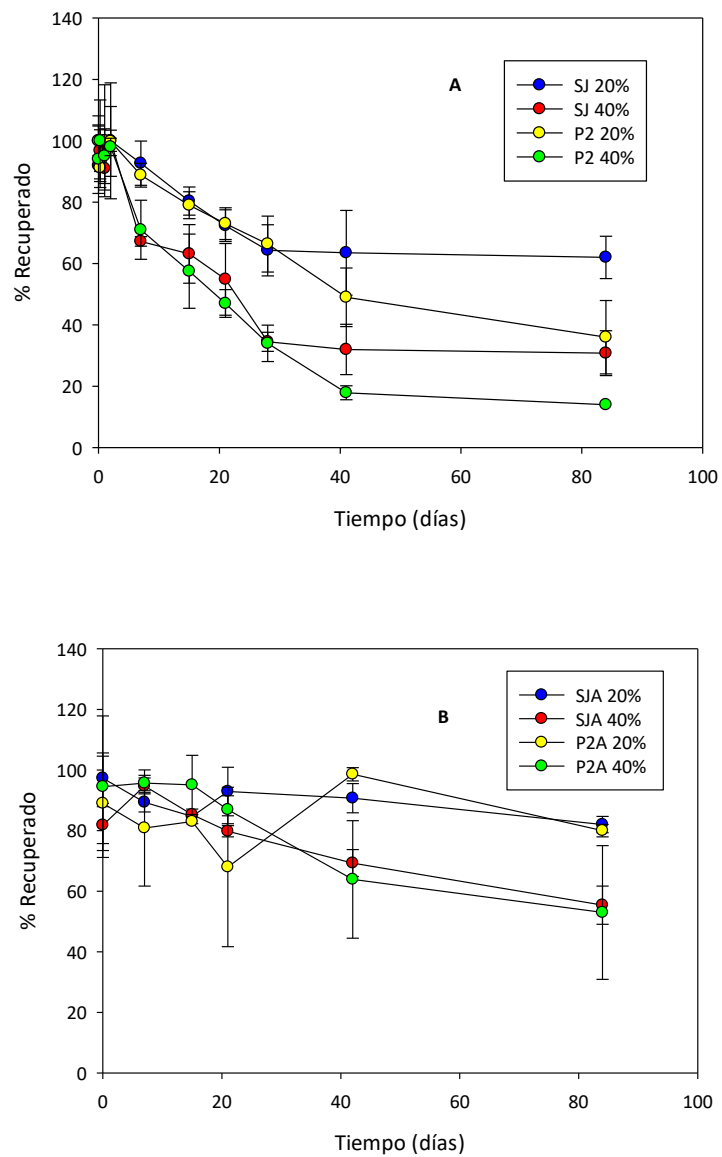


Figura IV.8: Porcentaje de oxifluorfen que permanece en los suelos originales (a) y enmendados (b) después de 82 días de incubación

Al aumentar el contenido en humedad al 40% disminuye la DT_{50} a 29.4 días en SJ y a 18.7 días en P2. La relación existente entre el incremento en los niveles de humedad de un suelo y la disminución de la persistencia de los plaguicidas en éstos ha sido ampliamente estudiado (Shelton y Parkin, 1991; Mojasevic et al., 1996) confirmándose que puede ser debida a un aumento de la bioaccesibilidad del compuesto (Ngigi et al., 2011) y/o a un incremento en la actividad microbiana del suelo (Bouseba et al., 2009). Como no se han visto diferencias relevantes en los parámetros de adsorción entre ambos suelos, parece ser que el aumento en la actividad en función de la humedad cobra más peso en la degradación de oxifluorfen. A pesar de todo, los valores de DT_{50} encontrados en este trabajo están, en general, de acuerdo con los encontrados por otros autores (Mojasevic et al., 1996; Yen et al., 2003; Martínez et al., 2004; Tomlin et al., 2006; Bouseba et al., 2009; Melo et al., 2010). No obstante, bajo condiciones de campo se ha observado una mayor persistencia ($DT_{50} > 109$ días) de oxifluorfen (Ying y Williams, 2000) respecto a la encontrada por nosotros bajo condiciones de laboratorio, pero esto es algo que ocurre generalmente con todos los pesticidas (Beulke et al., 2000).

Respecto a las enmiendas con alperujo de ambos suelos (P2 y SJ) se ha comprobado que existe un aumento en la persistencia de oxifluorfen en suelo a los dos niveles de humedad estudiados (Figura IV.8b). A un nivel de humedad del 40% en suelos enmendados, la vida media es de 120 y 88 días para SJA y P2A, respectivamente. Los valores de DT_{50} que se encuentran recogidos en la Tabla IV.4 confirman que un alto contenido en M.O. y arcilla del suelo (suelo SJ) junto a la enmienda orgánica aumenta la persistencia del herbicida en el suelo (Alister et al., 2009). En cualquier caso, la adición de compost de alperujo a los suelos originales puede enmascarar las diferencias que existieran entre ellos. El hecho de añadir materia orgánica en forma de compost de alperujo contribuye a la adsorción de

herbicidas (Cox et al., 1997; Albarrán et al., 2003; Fernandes et al., 2006) y por tanto protegería a oxifluorfen de la degradación. Sin embargo, esta M.O. también podría ser usada por los microorganismos ya existentes en el suelo como una fuente adicional de C (Albarrán et al., 2003; Fenoll-Serrano et al., 2010) disminuyendo la biodegradación de oxifluorfen y por lo tanto aumentando su persistencia en suelo (Cox et al., 1997, Albarrán et al., 2003; Cabrera et al., 2007).

Tabla IV.4. Constante de primer orden (K), vida media (DT_{50}) y coeficiente de regresión (R^2) del estudio de disipación de oxifluorfen en los suelos SJ y P2 (enmendados y sin enmendar) incubados a 25°C y a dos diferentes contenidos de humedad

Suelo	Humedad	K	DT_{50} , días	R^2
SJ	20%	-0.0092	75.1 (65.9-87.4) ^a	0.864
	40%	-0.0235	29.4 (26.3-33.4)	0.899
P2	20%	-0.0174	39.8 (38.0-41.9)	0.981
	40%	-0.0370	18.7 (18.0-19.5)	0.986
SJA	20%	nc	nc	nc
	40%	-0.0059	120 (102.5-145.3)	0.893
P2A	20%	nc	nc	nc
	40%	-0.0078	88.4 (77.6-102.6)	0.928

^a Los números en paréntesis corresponden a los errores estándar; nc: no calculado debido a que no se ha observado disipación durante el experimento

IV.5.5 Estudio de lixiviación

Lo más relevante de los estudios de lixiviación es que no se recupera oxifluorfen en ninguno de los lixiviados de las columnas, lo que sugiere un bajo potencial de lixiviación de acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores

(Fadayomi y Warren, 1977; Ying y Williams, 2000; Alister et al., 2009). No obstante, se podrían encontrar bajas concentraciones de oxifluorfen en los lixiviados ya que el LOQ del método analítico usado en este experimento de laboratorio fue de 0.05 mg/l. A pesar de ello, las pérdidas de oxifluorfen por lixiviación podrían llegar a un 10% del aplicado como máximo, por lo que si esta cantidad estuviera presente en los lixiviados supondría 0.03 mg/l, es decir, por debajo del límite de detección. En la Tabla IV.5 se encuentran recogidos los porcentajes de oxifluorfen lixiviados, extraídos y no recuperados al final del experimento de lixiviación en columnas, en los suelos originales y enmendados, y a dos temperaturas (5°C y 25°C).

Tabla IV.5. Cantidad total lixiviada, extraída y no recuperada de oxifluorfen al final del experimento de lixiviación

Suelo	Temperatura	Lixiviada (%)	Extraída (%)	No recuperada (%)
SJ	5° C	<10 ^a	78.7 ± 2.9	21.3
	25° C	<10	85.7 ± 8.4	14.3
SJA	5° C	<10	76.9 ± 0.7	23.1
	25° C	<10	39.6 ± 9.0	60.4
P2	5° C	<10	70.8 ± 2.8	29.9
	25° C	<10	4.9 ± 0.7	95.1
P2A	5° C	<10	50.9 ± 4.0	49.1
	25° C	<10	24.1 ± 18.8	75.9

^a Valor calculado asumiendo un límite de detección de 0.03 mg/l

Los porcentajes de oxifluorfen extraído de las columnas de suelos sin enmendar fueron mayores para SJ que para P2 a una temperatura de 25°C, lo que está de acuerdo con el experimento de disipación, es decir, mayor persistencia de

oxifluorfen en SJ que en P2 (Tabla IV.4). Estos resultados pueden ser atribuidos a la mayor retención de oxifluorfen por la M.O. y por la fracción arcilla del suelo SJ.

En experimentos de lixiviación donde, de forma discontinua pero diaria, hay una aplicación de un flujo de agua a lo largo de la columna de suelo, la distribución del tamaño de poro juega un papel fundamental. De acuerdo con Pignatello y Xing (1996) los poros de menor tamaño podrían ser un importante factor en la disminución de la bioaccesibilidad de compuestos orgánicos y por tanto, en su disipación, lo que a su vez va a influir en la lixiviación, y es muy difícil, distinguir estos procesos de retención en poros estancos de otros como adsorción química o formación de “bound residues” (Pigantello y Xing, 1996). La baja lixiviación de herbicidas en relación a la abundancia de poros de pequeño tamaño ya ha sido demostrada en otros casos (Cox et al., 1996, 1997). Esto parece estar confirmado por la baja cantidad de herbicida extraído de la columna con suelo P2 (4.9%), el cual presenta un bajo contenido en poros de pequeño tamaño. En este suelo, la degradación de oxifluorfen es mayor que en el suelo SJ, como ya se ha descrito anteriormente. Estos procesos de degradación deberían haber contribuido a las mayores pérdidas de herbicida, particularmente por el alto contenido en agua de los suelos en este experimento en columnas, el cual de acuerdo al experimento de disipación, aumenta la desaparición del herbicida.

La aplicación de compost de alperujo ha tenido diferente efecto en la cantidad de oxifluorfen residual recuperado, así como en el transporte de este herbicida en los dos suelos estudiados a 25°C. Al igual que en los suelos originales, una alta cantidad de oxifluorfen permaneció en las columnas con suelo SJ comparado con las de suelo P2. Estas diferencias, sin embargo, no eran tan marcadas como en los suelos sin enmendar. Por el contrario, la cantidad de oxifluorfen residual extraíble en el suelo P2 aumentó con la enmienda (Tabla IV.5). Esto puede ser atribuido a las interacciones entre los coloides MOS-suelo, las

cuales pueden contribuir a la creación de superficies organo-minerales (Celis et al., 2007), aumentando así la adsorción de moléculas de herbicida y disminuyendo la degradación.

En la Figura IV.9 se representa la distribución de oxifluorfen en las columnas a 25º y 5ºC con suelo enmendado y sin enmendar.

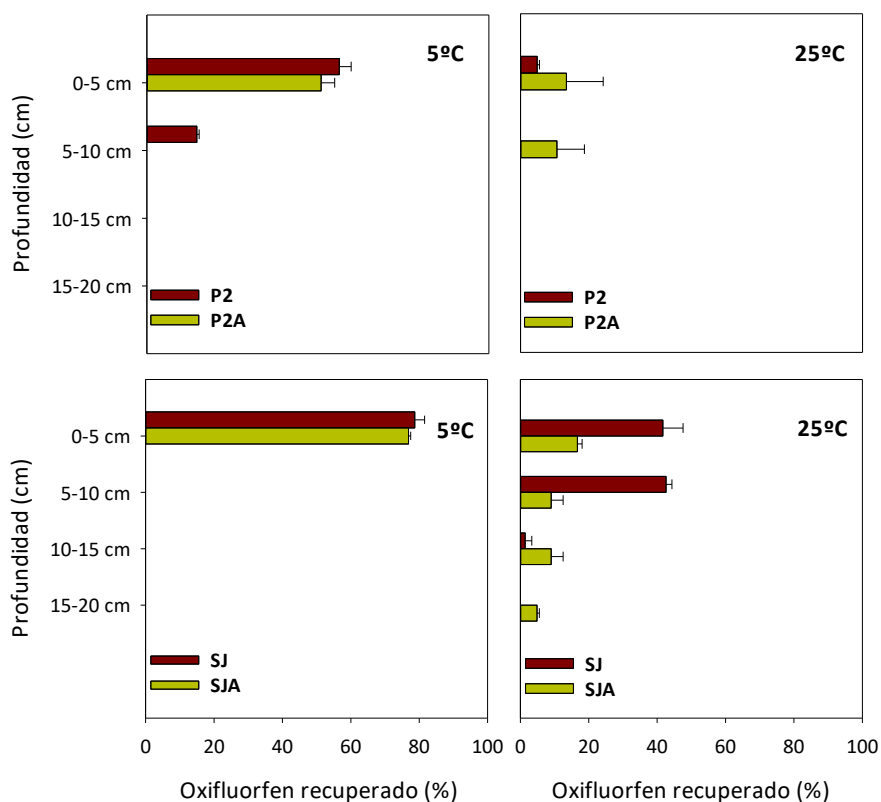


Figura IV.9: Distribución de residuos de oxifluorfen a lo largo de la columna de suelo después del experimento de lixiviación con los suelos P2 y SJ, enmendados y sin enmendar.

Los resultados sugieren una baja movilidad del herbicida, aumentando con la enmienda en el experimento llevado a cabo a 25°C. La distribución de oxifluorfen a esta temperatura en la columna con suelo SJ, muestra que los residuos de herbicida permanecen a bajas profundidades en suelos enmendados comparados con los suelos sin enmendar (Tabla IV.5). Debido a la alta retención en la superficie de los componentes orgánicos y de la arcilla en el suelo SJ, y en el interior de los poros de menor tamaño, oxifluorfen permaneció principalmente entre los dos primeros 5 cm de la columna. Las diferencias entre SJA y P2A, ambos con similar persistencia de oxifluorfen a un nivel de humedad del 40%, podría estribar en el movimiento vertical de las moléculas de herbicida facilitada por el desarrollo de poros de mayor tamaño, y por las interacciones herbicida-MOS-fracción mineral.

El movimiento de la MOS con el agua puede resultar en el desarrollo de nuevos poros en suelos enmendados, lo que se traduce en una ayuda en la difusión de las moléculas de herbicida dentro de poros de pequeño tamaño, retrasando su “desorción” y por tanto el movimiento hacia la parte baja de la columna de suelo. Sin embargo, las enmiendas de los suelos con compost de alperujo, mostraron una mayor cantidad de herbicida residual a mayores profundidades (Figura IV.9), sugiriendo que algunas asociaciones entre MOS y oxifluorfen pueden contribuir al movimiento en profundidad del herbicida (Celis et al., 2006; Cox et al., 2007).

La distribución de los residuos de oxifluorfen a lo largo de las columnas de suelo en el experimento de lixiviación llevado a cabo a 5°C (Tabla IV.5) mostraron una mayor cantidad de herbicida residual en los primeros 5 cm de la columna de suelo. Las altas cantidades recuperadas también indican una muy baja degradación. Las enmiendas con compost de alperujo sólo tuvieron algún efecto en el suelo P2. El gran aumento de oxifluorfen a 5°C respecto a 25°C en los

primeros 5 cm sugiere una disminución de los procesos de degradación a esta temperatura, aunque también un menor movimiento vertical de oxifluorfen en el suelo P2A. Este resultado indica que la aplicación de oxifluorfen al suelo en invierno aumentaría las pérdidas por escorrentía de este herbicida, como es el caso del olivar en el sur de España, las cuales podrían ser mayores si es aplicado en suelos enmendados con compost de alperujo.

IV.6 CONCLUSIONES

Los resultados han mostrado en general la importancia de los procesos de adsorción y de la enmienda realizada con compost de alperujo, ya que ambos influyen sobre otros procesos que van a ser determinantes en su presencia en las aguas como es la disipación o persistencia y la lixiviación de oxifluorfen. En cambio, la fotodegradación tiene muy poca influencia sobre la desaparición y persistencia de oxifluorfen en suelo, tal y como corroboran los correspondientes resultados obtenidos. La persistencia de oxifluorfen está íntimamente ligada a los procesos de adsorción, los cuales a su vez están afectados por la fracción arcilla y los componentes orgánicos del suelo, lo que se traduce en un aumento de los valores de vida media (hasta 4 veces) cuando se realiza la enmienda con compost de alperujo. Los resultados de la lixiviación de este herbicida a lo largo del perfil del suelo muestran una gran dependencia respecto a la composición y porosidad del suelo, así como a la temperatura ambiente. A bajas temperaturas, oxifluorfen se acumula en los primeros 5 centímetros de suelo, no existiendo grandes diferencias de comportamiento entre el suelo original y el enmendado. Por el contrario, en el experimento realizado a 25°C, oxifluorfen mostró mayor movilidad vertical y además ésta se vio potenciada con la enmienda, principalmente por dos razones: a) el aumento de macro y mesoporos debido a la

asociación MOS-partículas de suelo en un caso; y b) a la asociación MOS-herbicida o competencia MOS/herbicida por los mismos sitios de adsorción. Este comportamiento resulta más llamativo en el caso del suelo con mayor contenido en arcilla.

De todos estos resultados podemos obtener las siguientes conclusiones:

1. Hay que tener precaución en la aplicación de oxifluorfen en función de la fecha de aplicación, ya que en el caso de realizarse en invierno, y debido a su alta persistencia en los primeros 5 cm de suelo, puede haber un alto riesgo de arrastre a aguas superficiales por las pérdidas por escorrentías que pudieran producirse. Y en el caso de realizarse en primavera, tener cuidado si el suelo es rico en materia orgánica.
2. Estos fenómenos de escorrentía y lixiviación, dependiendo del suelo y temperatura medidos en el laboratorio, podrían explicar la presencia en las aguas superficiales y subterráneas del oxifluorfen medidos en 2008-2010.
3. La enmienda con compost de alperujo, por tanto, y de acuerdo con nuestros resultados, no es una práctica recomendable cuando se va a aplicar oxyfluorfen, puesto que no garantiza la minimización de estos procesos adversos.

*CAPÍTULO V. USO DE ARCILLAS NATURALES,
MODIFICADAS Y COMERCIALES COMO
SOPORTES DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE
TERBUTILAZINA*

V.1 INTRODUCCIÓN

El efecto negativo derivado del uso de plaguicidas va a estar relacionado fundamentalmente con la movilidad de estos compuestos que hace sean transportados por procesos de lixiviación y de escorrentías a aguas superficiales y subterráneas, y que posteriormente serán utilizadas para consumo humano. Esta pérdida de plaguicidas, respecto al compuesto aplicado, supone no solo un riesgo para el medio ambiente y la salud, sino también una reducción de la eficacia de los propios productos fitosanitarios en su acción biocida. En muchas ocasiones estas pérdidas de plaguicidas ocurridas principalmente en épocas de alta pluviometría son compensadas con nuevas aplicaciones, lo que aumenta el riesgo de contaminación, así como una elevación en los costes del consumo de fitosanitarios, sin olvidar los efectos toxicológicos producidos sobre los ecosistemas (De Lorenzo et al., 2001). Una de las posibles soluciones para solventar estos efectos indeseables es el desarrollo de formulaciones que permitan reducir la cantidad de herbicida liberado al medio ambiente mediante el soporte del mismo, generalmente en forma de ingrediente activo, en adsorbentes. Estas formulaciones tienen un doble objetivo: reducir la contaminación medioambiental por plaguicidas y permitir una aplicación localizada y sostenida del producto, pudiendo ejercer una acción más eficaz sobre la mala hierba. Por ello, este tipo de formulación es especialmente apropiada para herbicidas de acción sistémica en el que el principio activo es absorbido por las raíces.

Existe una amplia gama de materiales que pueden ser utilizados como soportes para formulaciones, ya sea mediante adsorción o micro-encapsulación de plaguicidas (Yusoff et al., 2016), entre los que destacan: minerales de arcilla (Cox et al., 2000; Lagaly, 2001; Celis et al., 2007); materiales silíceos (Chen et al., 2011; Shirvani et al., 2014); ciclodextrinas (Undabeytia et al., 2013; Zhang et al.,

2016); quitosano (Silva et al., 2011); otros polímeros como lignina (Fernández-Pérez et al., 2011) o celulosa (Zhao et al., 2013); y materiales como cianobacterias (Yan et al., 2013) o biocarbones (Cai et al., 2013).

En este capítulo nos vamos a centrar en el uso de arcillas como soportes para formulaciones de plaguicidas, adoptando la expresión de “nanopesticida”, la cual se refiere a formulaciones de plaguicidas que tienen al menos un componente que entra dentro de la escala de tamaño nano (Kah y Hofman, 2014). Según Johnston (2010) es la escala nanométrica la que define los sitios activos de la superficie de las arcillas, y es donde ocurren las interacciones arcilla-agua, arcilla-compuestos orgánicos y las interacciones partícula-partícula, por nombrar tres importantes facetas relacionadas con su empleo en formulaciones. El uso de arcillas en formulaciones ha sido ampliamente estudiado debido a la alta superficie específica que presentan, así como a una alta estabilidad química y mecánica, y una gran variedad de propiedades estructurales debido a su estructura laminar, además de ser componentes naturales del propio suelo. Todo ello le confiere un alto poder adsorbente de compuestos, fundamentalmente iónicos y polares, además de tener un bajo o nulo efecto tóxico. Con el objeto de ampliar el campo de aplicación de las arcillas como adsorbentes, éstas suelen modificarse con cationes orgánicos y polímeros, lo que cambia el carácter hidrofílico de la superficie de la arcilla hacia un carácter hidrofóbico, aumentando la afinidad de los minerales de la arcilla por compuestos hidrofóbicos, entre los que se encuentran una gran cantidad de plaguicidas. Estas arcillas son conocidas como organoarcillas y tienen un gran campo de aplicación como formulaciones de plaguicidas (Hermosín et al., 2001; Celis et al., 2002; Cornejo et al., 2008; Li et al., 2008). Las arcillas inorgánicas también han sido utilizadas como soporte de este tipo de formulaciones pero en menor medida que las organoarcillas (Cox et al., 2000; Celis et al., 2002). Los modificadores orgánicos pueden ser desde cationes

orgánicos de tamaño pequeño que potencian la hidrofobicidad en la capa octaédrica de la lámina, hasta cationes altamente voluminosos como los alquilamonios cuaternarios de cadena larga, los funcionalizados (Celis et al., 2000; Rodríguez-Cruz et al., 2007) e incluso polímeros (Gámiz et al. 2010; Celis et al., 2012), que según su proporción pueden adsorberse en el espacio interlaminar, o formando recubrimientos en la superficie externa de las arcillas (Adelino, 2014). En cualquier caso los parámetros que afectan a las propiedades de estas formulaciones dependen de la naturaleza y tipo de polímero utilizado para la modificación, de modo que desde un punto de vista agronómico se prefieren aquellos que sean naturales comparados con polímeros sintéticos, debido a su carácter no tóxico, bajo precio, fácil accesibilidad y con características biodegradables (Flores-Céspedes et al., 2007). De ahí que existan trabajos en los que se utilizan compuestos orgánicos naturales como ácidos grasos para la obtención de organoarcillas (Celis et al., 2014; Adelino, 2014) e incluso materiales naturales como gluten de trigo, que al unirse a las organoarcillas potencian las características de éstas como formulaciones de liberación lenta (Chevillard et al., 2012a).

Las arcillas y organoarcillas presentan diferentes usos entre los que destacamos:

- Formulaciones de liberación controlada (FLC): Este tipo de formulación permite la liberación gradual de plaguicida para cumplir su función biocida, en la que una fracción del plaguicida permanece adsorbida en el soporte, mientras que la otra fracción del plaguicida debe estar disponible para ser liberada al medio. En cualquier caso, la cantidad de plaguicida liberado nunca llegará a alcanzar altas concentraciones en el medio ambiente, fenómeno que si suele ocurrir cuando se realiza la aplicación del compuesto en su forma libre (formulación comercial). La fracción de

plaguicida que permanece adsorbida a la arcilla u organoarcilla lo hace mediante diferentes tipos de interacciones (hidrofóbicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals) las cuales han sido ampliamente estudiadas (Boyd et al., 1988; Celis et al., 1999b; Aguer et al. 2000b; Undabeytia et al., 2000; Hermosín et al. 2001; Cox et al., 2002). Este hecho hace que se puedan preparar adsorbentes “a la carta” según el tipo de molécula, plaguicida o fármaco del que se quiera diseñar una FLC (Cornejo et al., 2008; Adelino, 2014).

- Cuando el grado de adsorción entre el plaguicida y el soporte es muy alto, hablamos entonces del uso de éstos como filtros para depuración de aguas, los cuales pueden utilizarse para descontaminaciones puntuales de ecosistemas acuáticos (Hermosín y Cornejo, 1992; Celis et al., 1999b; Aguer et al., 2000b; De Martino et al., 2011).
- Otro uso de las arcillas u organoarcillas sería como barreras inmovilizantes de plaguicidas, impidiendo la lixiviación de éstos hacia capas profundas del suelo y por tanto la contaminación de aguas subterráneas. Autores como Rodríguez-Cruz et al. (2007) han realizado experimentos de lixiviación en columnas con suelos en los que se dispusieron barreras con distintos tipos de minerales de arcilla modificados con alquilamonio (Octadeciltrimetilamonio) y observaron una reducción considerable en la lixiviación de varios plaguicidas.

A pesar del gran número de trabajos realizados respecto a las FLC de plaguicidas y los diferentes puntos de vista tratados como: naturaleza de los adsorbentes, tipo de modificadores (fundamentalmente orgánicos) de las arcillas e interacciones establecidas entre ambos, métodos de síntesis de FLC, etc., existe cierta resistencia a ser empleadas como solución en la industria fitosanitaria. Esto

se debe fundamentalmente a que las inversiones asociadas a esta industria van más encaminadas al desarrollo de nuevas moléculas, que es lo que tienen que rentabilizar, y menos a cuidar el aspecto medioambiental, ya que de momento por contaminar no hay que pagar. Por ello hay que resaltar que el empleo de FLC permitiría incluso el “rescate” de moléculas actualmente desechadas o con un uso muy limitado en Europa, como es el caso de la mayoría de las triazinas, las cuales se encuentran presentes en la mayoría de las aguas subterráneas europeas. A esto hay que unirle el hecho de que las patentes de estos compuestos han cumplido, por lo que su síntesis estaría liberalizada, lo que repercutiría positivamente en el abaratamiento a la hora de realizar formulaciones, entre ellas las FLC, con este tipo de molécula.

V.2 OBJETIVOS

El objetivo global es comprobar que el soportar el herbicida terbutilazina en arcillas (complejos soportados) de diferente carácter y origen, puede ser una solución como componente de formulaciones de liberación controlada (FLC) y de este modo minimizar su impacto ambiental, principalmente en aguas. Para ello se va a utilizar una amplia gama de arcillas como adsorbentes entre las que se encuentran: arcillas modelos o estándar naturales, una arcilla blanca de un yacimiento andaluz (Bailén) de bajo valor económico, una arcilla aniónica o hidróxido mixto laminar sintético y organoarcillas comerciales. Todas estos adsorbentes se van a utilizar tanto en su forma original como modificados en laboratorio, a excepción de las organoarcillas comerciales que ya son suministradas modificadas con cationes orgánicos.

Se van a realizar diferentes experimentos para la consecución de los objetivos planteados, entre los que se encuentran:

- a) Determinar la capacidad de adsorción de terbutilazina en agua de los distintos adsorbentes para seleccionar los más apropiados como soportes.
- b) Determinar la reversibilidad del proceso de adsorción de terbutilazina a los adsorbentes seleccionados mediante la realización de isotermas de adsorción-desorción.
- c) Determinar cómo actúan los diferentes complejos preparados, con los diversos materiales elegidos como soportes, en los procesos de liberación del herbicida en agua
- d) Determinar cómo se ve afectada la lixiviación de terbutilazina soportada en FLC mediante la realización de experimentos en columnas de suelo
- e) Determinar la eficiencia de terbutilazina en su actividad biocida, estando soportada en complejos, mediante estudio de bioensayo.

V.3 MATERIALES

V.3.1 Arcillas

Las arcillas utilizadas en este estudio fueron las siguientes: a) Arcillas modelo: SWy-2, SW-Fe, SW-HDTM; b) Arcilla local de bajo valor económico: CTI, CTI-Fe, CTI-HDTM; c) Arcilla aniónica sintética: HT₅₀₀, HT OLE; y d) Arcillas comerciales: SD-1, SD-3 y CL-30. A continuación se describe brevemente el tratamiento seguido para su preparación:

1. SWy-2: se trata de una montmorillonita rica en Na⁺ y que ha sido suministrada por “The Source Clays Minerals Repository”. Esta arcilla fue utilizada

también modificada para lo cual se sometió a diferentes tratamientos que se especifican a continuación:

1.a. SW-Fe: se obtuvo tras la saturación con el catión Fe (III) de la montmorillonita SWy-2 original. Para ello 10g de SWy-2 se saturaron con 100 ml de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1M mediante tres saturaciones sucesivas en 3 días consecutivos. Tras este paso se realizan lavados cortos de 30 minutos con agua desionizada, y después se centrifuga, midiendo en los sobrenadantes la cantidad de cloruros presentes con NO_3Ag . Una vez comprobado la total eliminación de cloruros de la muestra, ésta se congela y se liofiliza.

1.b. SW-HDTMA: se obtuvo tras la saturación con el catión hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) de la montmorillonita original SWy-2. 50 ml de una disolución etanol:agua (50:50) con 1.6 g de HDTMA se puso en contacto con 5 g de arcilla. Esta concentración de alquilamonio correspondía al 100% de la CIC de la montmorillonita. La suspensión se agitó durante 24 horas tras lo cual se centrifugó y se lavó tres veces con etanol:agua (50:50) mediante lavados cortos. Después se realizaron lavados con agua desionizada hasta la total eliminación de cloruros, se congeló y se liofilizó.

2. La muestra **CTI** ha sido suministrada por el Centro Tecnológico Innovarcilla (Bailén, Jaén), la cual consiste en un material de rechazo procedente de la extracción de arcilla con mayor pureza que será utilizada como material cerámico (González et al., 1998). La principal característica de este material es que se trata

de una arcilla de baja calidad rica en carbonatos (30%) y con un contenido en filosilicatos del 33%. El análisis mineralógico y granulométrico se encuentra recogido en la Tabla V.1., en la que puede comprobarse que dentro de los filosilicatos la mayor fracción corresponde a esmectitas (68%)

Tabla V.1: Análisis mineralógico y granulométrico de la arcilla CTI proporcionada por Innovarcilla

Composición mineralógica (%)										Granulometría (%)		
Q	Fd	C	D	Fi	Filosilicatos					< 2	2-20	>20
					Es	Il	Ca	Cl	P	(μm)	(μm)	(μm)
28	6	25	8	33	68	32	Nd	Nd	Nd	22	34	41

Q: Cuarzo; Fd: Feldespato; C: Calcita; D: Dolomita; Fi: Filosilicatos; Es: Esmectitas; Il: Illita; Ca: Caolinita; Cl: Clorita; P: Pirofilita; Nd: No detectado

Dicha arcilla se utilizó como adsorbente previa eliminación de carbonatos con HCl. Para dicho proceso se preparó una suspensión de arcilla (50 g) y un litro de agua que se mantuvo en agitación constante y a la que se le iba añadiendo HCl hasta la completa eliminación de carbonatos. Al igual que en el caso anterior, esta arcilla también se utilizó modificada mediante los siguientes procesos:

2.a. CTI-Fe: se obtuvo mediante la saturación con el catión Fe (III) de la arcilla CTI, previa eliminación de carbonatos, siguiendo la metodología descrita anteriormente para la arcilla SWy-2.

2.b. CTI-HDTMA: al igual que en el caso de la saturación con Fe, se realizó previa eliminación de carbonatos y siguiendo la metodología descrita para la saturación con HDTMA de la arcilla SWy-2.

3. Hidrotalcita o HT: consiste en un hidróxido doble laminar (LDH) Mg:Al (3:1) con CO_3^{2-} como anión interlaminar sintetizado en laboratorio siguiendo la metodología descrita por Adelino (2014). Concretamente la HT₅₀₀ usada en este trabajo es un subproducto calcinado de la hidrotalcita obtenida por el proceso anterior, al ser sometida a una temperatura de 550°C durante 3 horas para obtener un óxido mixto amorfo. A partir de esta se obtuvo la HT orgánica modificada de la siguiente forma:

3.a. HT-OLE: es una organohidrotalcita con ácido oléico como anión modificador el cual se sintetizó utilizando el método de reconstrucción a partir del producto calcinado (HT₅₀₀) (Chibwe y Jones, 1989; Cavani et al., 1991; Pavlovic et al., 1997). Adelino (2014) describe todo el proceso de preparación de dicha organohidrotalcita.

4. Bentone SD®-1 (SD-1): es una organoarcilla comercial procedente del tratamiento de una bentonita con un aditivo orgánico y ha sido suministrada por Elementis Specialties (East Windsor, New Jersey).

5. Bentone SD®-3 (SD-3): al igual que la anterior, es una organoarcilla comercial procedente del tratamiento de una hectorita con un aditivo orgánico y ha sido suministrada por Elementis Specialties (East Windsor, New Jersey).

6. Cloisite® 30B (CI-30): es una organoarcilla comercial procedente del tratamiento de una montmorillonita con un amonio cuaternario y que ha sido suministrada por BYK-Chemie GmbH (Wesel, Germany). La estructura del modificador orgánico se muestra en la Figura V.1, consistente en un amonio cuaternario formado por un grupo metilo, 2 grupos hidroxietanol y una cadena alquílica (T) con un número variable de carbonos (65% C18; 30% C16; 5% C14). La concentración de modificador es de 90 meq/100 g arcilla.

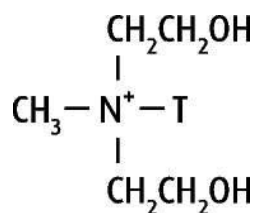


Figura V.1: Estructura del modificador orgánico de Cloisite® 30B

Las principales características de los adsorbentes de partida que se han utilizado en este capítulo se encuentran resumidas en la Tabla V.2.

Tabla V.2: Características de los adsorbentes utilizados en la prueba de adsorción

Adsorbentes	C (%)	N (%)	Espaciado basal (Å)	Diámetro partícula (nm)	SSA-N ₂ (m ² /g)
SWy-2	0.32	<0.05	15.1	833	38.89
SW-Fe	0.26	<0.05	12.8	967	18.89
SWHDTM	14.84	0.84	18.0	694	11.09
CTI	0.43	<0.05	13.73	1106	69.26
CTI-Fe	-	-	14.20	1445	81.39
CTI-HDTM	8.49	0.5	19.72	4006	23.58
HT ₅₀₀	0.8	<0.05	na	na	
HT-OLE	38.4	<0.05	38.5	692	4.07
SD-1	37.70	1.12	39.42	640	4.22
SD-3	33.52	0.98	33.02	667	6.32
Cloisite 30B	19.51	3.78	18.73	1816	7.23

V.3.2 Suelo

El suelo utilizado en este capítulo procede de la finca experimental La Hampa, situada en Coria del Río (Sevilla) y que está dedicado al cultivo del olivar.

Las principales propiedades físico-químicas de este suelo fueron analizadas en el servicio de análisis del IRNAS según la metodología descrita en capítulos anteriores y se encuentran recogidas en la Tabla V.3. El suelo se tomó a una profundidad de 0-20 cm y una vez en el laboratorio se dejó secar, se molió y se tamizó a un tamaño de 2 mm.

Tabla V.3: Propiedades físico-químicas del suelo procedente del olivar (suelo OC)

Propiedades	Suelo Olivar Coria (OC)
Arena fina (%)	8.5
Arena gruesa (%)	55.7
Limo (%)	17.5
Arcilla (%)	17.7
Clase textural	Franco arenosa
pH (Ext 1:2.5)	7.84
C.E. (Ext 1:5) (mS/cm)	0.185
Ca Co ₃ (%)	9.8
C.O. (%)	1.3
M.O.	1.57
N Kjeldahl (%)	0.086

V.3.3 Herbicida

El herbicida estudiado en este capítulo ha sido terbutilazina cuyas características y propiedades ya han sido descritas en capítulos anteriores.

V.4 MÉTODOS

V.4.1 Estudio de adsorción e isothermas de adsorción-desorción

Se ha realizado un estudio previo de adsorción de terbutilazina usando como adsorbentes las arcillas descritas en el apartado anterior, con el objeto de seleccionar aquellas que presentan las condiciones idóneas para ser utilizadas en complejos de liberación lenta. Este estudio se realizó con dos concentraciones iniciales de terbutilazina de 1 y 4 ppm y por duplicado usando tubos pyrex en los que se pesaron 100 mg de adsorbente y se les añadió 8 ml de la correspondiente disolución inicial de terbutilazina. Se dejó agitar durante 24 h a $20\pm 2^\circ\text{C}$ y se centrifugó a 5.000 r.p.m. durante 15 minutos, analizando por HPLC el sobrenadante para obtener la concentración de plaguicida que permanece en equilibrio. Una vez realizado este primer estudio de adsorción y seleccionadas las arcillas que cumplían las condiciones para ser utilizadas en los complejos de liberación lenta, se procedió a realizar una segunda prueba de adsorción con el objeto de poder rescatar algunas de las arcillas descartadas en este primer paso. Para ello lo que se cambió fue la relación sólido/solución, usando 20 mg de adsorbente y 8 ml de las dos disoluciones iniciales de terbutilazina. A partir de las concentraciones de equilibrio medidas en ambos estudios de adsorción se calcularon los porcentajes de terbutilazina adsorbidos (% Ads) a los diferentes adsorbentes usando la siguiente expresión (Ecuación V.1):

$$\% \text{ Ads} = [(C_{\text{ini}} - C_{\text{e}}) / C_{\text{ini}}] \times 100 \quad (\text{Ec. V.1})$$

Donde

C_{ini} es la concentración inicial y C_{e} es la concentración de equilibrio

Una vez seleccionados los adsorbentes, a los dos tipos de relación sólido/solución, se procedió a realizar un estudio de adsorción-desorción a

diferentes concentraciones iniciales de terbutilazina (0.5, 1, 2, 3 y 4 ppm) en dichos adsorbentes. Para ello se pusieron en contacto 100 mg de adsorbente para el primer grupo seleccionado y 20 mg de adsorbente para el segundo grupo seleccionado con 8 ml de las diferentes disoluciones iniciales de terbutilazina. Al igual que en casos anteriores se usaron tubos pyrex por duplicado y se dejaron agitar durante 24 h a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, tiempo suficiente para haber alcanzado el equilibrio y se centrifugaron 15 minutos a 5.000 r.p.m. Se retiraron 4 ml de sobrenadante en los cuales se analizó la concentración de equilibrio mediante HPLC, a partir de la cual pudo calcularse la concentración de herbicida adsorbido utilizando la ecuación usada en el capítulo anterior (Ecuación III.1). La representación gráfica de las C_e y C_s obtenidas para cada concentración inicial permitieron obtener la isoterma de adsorción. Y mediante el ajuste a la ecuación de Freundlich (Ecuación III.2) de dichos datos nos permitieron obtener las constantes K_f y N_f , los cuales son una medida de la capacidad de adsorción y de la forma de la isoterma, respectivamente.

La desorción se midió inmediatamente después de la adsorción en los puntos correspondientes a las concentraciones iniciales de 1 y 4 ppm. Los 4 ml de sobrenadante retirados para la medida de la adsorción se sustituyeron por 4 ml de agua. Después se volvió a agitar a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 h, la suspensión se centrifugó y la concentración del herbicida se determinó en el líquido sobrenadante. Este proceso de desorción se repitió tres veces obteniéndose para cada punto de desorción la concentración de herbicida adsorbida en cada paso de desorción según la ecuación III.1 ya explicada en capítulos anteriores. Las isotermas de desorción se obtuvieron representando la cantidad de herbicida que permanece adsorbido, C_{sd} , a la concentración de equilibrio C_{ed} tras cada paso de desorción. Estas isotermas también se ajustaron a la ecuación de Freundlich, obteniéndose los coeficientes de desorción correspondientes, K_{fdes} y N_{fdes} , a partir

del ajuste lineal de $\log (C_{sd})$ frente a $\log (C_{ed})$. Además se calcularon los coeficientes de histéresis (H) como el cociente entre los valores de N_f de la desorción y los valores N_f de la adsorción, indicando la reversibilidad de la adsorción.

V.4.2 Preparación de complejos

En este apartado se describe la preparación de las diferentes formulaciones de liberación controlada de plaguicidas los cuales nos sirvieron para realizar el resto de experimentos que se llevaron a cabo en este capítulo, como estudios de liberación en agua, movilidad en suelos y bioensayos.

Con las arcillas seleccionadas en el primer estudio de adsorción y correspondiente a una relación sólido/solución de 100mg/8ml, se prepararon complejos adsorbente-herbicida con una proporción de herbicida al 4%. En el caso de las arcillas seleccionadas en el segundo estudio de adsorción, con una relación sólido/solución de 20mg/8ml, se prepararon complejos adsorbente-herbicida con una proporción de herbicida del 10 y 20%. En todos los casos la cantidad de complejo que se preparó fue de 500 mg. En cuanto al modo de preparación de los complejos se siguieron tres metodologías diferentes con el objeto de poder obtener tres tipos de complejos con diferentes sistemas de liberación. Las metodologías seguidas fueron las siguientes:

- Complejo fuerte (CF): En tubo pyrex se pesó la mezcla de arcilla y terbutilazina técnico (pureza del 95%) y se le añadió 5 ml de metanol. Esta suspensión se dejó agitar durante 24 h y se dejó evaporar el metanol a temperatura ambiente, tras lo cual se procedió a moler la mezcla en un mortero de ágata.

- Complejo débil (CD): En tubo pyrex se pesó la mezcla de arcilla y terbutilazina técnico y se le añadió 1 ml de metanol. Esta mezcla se agitó durante 5 minutos en vortex y se dejó evaporar el metanol a temperatura ambiente para después moler la mezcla con mortero de ágata.
- Mezcla física (MF): Se pesó la mezcla de arcilla y terbutilazina técnico y directamente se procedió a moler dicha mezcla en mortero de ágata.

Con estas 3 preparaciones se intenta que el herbicida tenga una interacción gradual con el soporte de forma que ésta disminuiría según la tendencia $CF > CD > MF$. Tras la preparación de los diferentes complejos de terbutilazina, 10 mg de dichos complejos se extrajeron con 10 ml de metanol, agitando 24h y centrifugando 15 min a 5.000 r.p.m., con el fin de conocer la eficiencia en la preparación de los complejos y comprobar la cantidad exacta de terbutilazina presente en éstos.

V.4.3 Cinética de liberación en agua

La cinética de liberación de terbutilazina en agua de los diferentes complejos preparados se ha realizado de la siguiente forma: en botes de vidrio ámbar y por duplicado (Figura V.2), se añadieron 250 ml de agua y 1 mg de herbicida, el cual se añadió tanto en forma de complejo (4, 10 y 20%) como en su forma libre (comercial y técnico). Se seleccionaron diferentes tiempos de muestreo que fueron desde los primeros 10 minutos hasta las 168 h, para lo cual se agitaron los botes manualmente antes de la toma de muestra y se dejaron reposar durante 10 minutos. En cada muestreo se tomaron 2 ml de disolución, se filtró y se analizó

por HPLC para determinar la cantidad de herbicida liberado de los complejos con el tiempo.



Figura V.2: Botes de liberación en agua de los diferentes complejos de terbutilazina

V.4.4 Estudio de lixiviación

Se ha realizado un estudio de lixiviación de terbutilazina en suelo en su forma comercial y como formulación de liberación lenta al 4 y 20%. Este experimento se ha llevado a cabo en columnas de vidrio siguiendo el protocolo ya descrito en capítulos anteriores. Las principales diferencias respecto a los experimentos realizados en capítulos anteriores, reside fundamentalmente en la cantidad de suelo utilizado, el volumen de poro de dicho suelo y la dosis de aplicación del herbicida. La cantidad de suelo utilizado para rellenar las columnas fue de 160 g y el volumen de poro calculado para este suelo y tras la saturación con agua fue de 58.1 ± 1.5 . Respecto a la dosis de aplicación del herbicida en forma comercial y como formulación al 4% fue de 1kg i.a./ha, coincidiendo con la dosis que se aplica en campo. Sin embargo en el caso de la dosis de aplicación para la formulación al 20%, se aplicó el doble de la dosis de campo con el objeto de evitar errores en la

pesada de dichas formulaciones. La aplicación del producto comercial se realizó disuelto en agua, mientras que el resto de formulaciones se realizó como sólido en la superficie de la columna. Tras la aplicación del herbicida se añadió diariamente 15 ml de agua, los cuales fueron analizados por HPLC una vez lixiviados al final de la columna. Todo este experimento se llevó a cabo por duplicado y finalizó una vez que no se detectó terbutilazina en los lixiviados.

Al finalizar el experimento de lixiviación, el suelo de las columnas se dividió en 4 porciones de 5 cm para proceder a la extracción de la terbutilazina que no había lixiviado y que permanecía retenida en el suelo. Esta extracción se realizó añadiéndole 100 ml de metanol a cada una de esas porciones y dejando agitar durante 24h, tras lo cual se centrifugó, y el sobrenadante se filtró y se analizó por HPLC.

V.4.5 Estudio de eficacia: Bioensayo

Con este estudio se pretende analizar la eficacia de las distintas formulaciones en su actividad biocida para lo cual se ha recurrido a un diseño completamente al azar de los distintos tratamientos, tal y como muestra la Figura V.3. Para este bioensayo se eligieron semillas de *Chenopodium álbum* (cenizo), suministradas por Semillas Silvestres S.L. (Córdoba), ya que corresponde a una de las principales malas hierbas anuales que suelen encontrarse en el olivar. Previo al bioensayo se realizó una prueba de germinación por triplicado en placas Petri con 0.1 gr de *Chenopodium álbum*, obteniéndose un porcentaje de germinación del 95%. Para el estudio de eficacia se utilizaron 63 macetas de 4.5 cm x 5 cm, que se rellenaron con lana de vidrio, 10 gr de arena de mar y 60 gr de suelo. Se regaron por la parte inferior y se dejaron drenar 24h. Una vez transcurrido este tiempo se sembraron las macetas con 0.1 gr de semillas de *Chenopodium álbum* y se realizaron los

distintos tratamientos entre los que se incluyó: control, terbutilazina comercial (Cuña 50% p/v), SWy (CF, CD, MF), SWHDTMA (CF, CD, MF), CTI (CF, CD, MF), SD-1 (CF, CD, MF), SD-3 (CF, CD, MF) y CI-30 (CF, CD, MF). En todos los casos (comercial y FLCs) el herbicida se aplicó a la dosis de campo, realizándose en el caso de la formulación comercial, mediante la adición de 1 ml de una disolución acuosa de terbutilazina y en el caso de las FLC, con 10 mg de formulación al 4% y con 4 mg de formulación al 20%, ambos en polvo sólido. Se mantuvo una humedad constante de las macetas mediante la adición de agua por la parte inferior de las mismas.



Figura V.3: Diseño al azar del bioensayo con *Chenopodium álbum* de terbutilazina en diferentes FLCs.

V.4.6 Condiciones analíticas

El análisis de terbutilazina por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se realizó del mismo modo que se ha descrito en capítulos anteriores.

V.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.5.1 Estudio de adsorción

En la Figura V.4 se representa gráficamente los porcentajes de adsorción de terbutilazina en los distintos adsorbentes que se han elegido de partida. En líneas generales se comprueba que no existen demasiadas diferencias en los porcentajes de adsorción entre las dos concentraciones estudiadas, 1 y 4 ppm, a excepción de HT-OLE. En este adsorbente se observa un mayor porcentaje de adsorción a 1 ppm (94.9%) que a 4 ppm (63%), debido a que los centros de adsorción de este herbicida básico son limitados y se corresponden principalmente con los aniones de ácido oléico (Celis et al., 2014). Para la relación sólido/solución estudiada, los porcentajes de adsorción de terbutilazina a las arcillas SWy, SWHDTM y CTI se encuentran entre el 65% y el 34% mientras que para el resto de adsorbentes estos porcentajes son muy elevados (80%-100%), entre los que se encuentran los adsorbentes modificadas con Fe (III) (SWy Fe y CTI Fe) y los modificados orgánicamente (CTI HDTM, HT-OLE, SD-1, SD-3 y Cl-30).

Centrándonos en los posibles mecanismos de adsorción de terbutilazina a los distintos adsorbentes elegidos cabe destacar la baja adsorción de terbutilazina en la HT₅₀₀ respecto a la organohidrotalcita (HT-OLE), lo que pone de manifiesto la mejora del poder adsorbente de la hidrotalcita cuando es modificada por un ácido graso como el oléico. La baja adsorción de terbutilazina a la HT calcinada, y vuelta a reconstruir, en presencia de disoluciones acuosas, se debe a la presencia de carga neta positiva en las láminas, lo que limita la adsorción sólo a plaguicidas aniónicos (Hermosín et al., 1996; Celis et al., 1999b; Sánchez-Martín et al., 1999; Li et al., 2004; Bruna 2010). Adelino (2014) demostró que terbutilazina presenta una alta adsorción a HT-OLE ya que se establecen interacciones hidrofóbicas entre la

terbutilazina y la fracción orgánica de la organohidrotalcita constituida por aniones orgánicos (Celis et al., 2014).

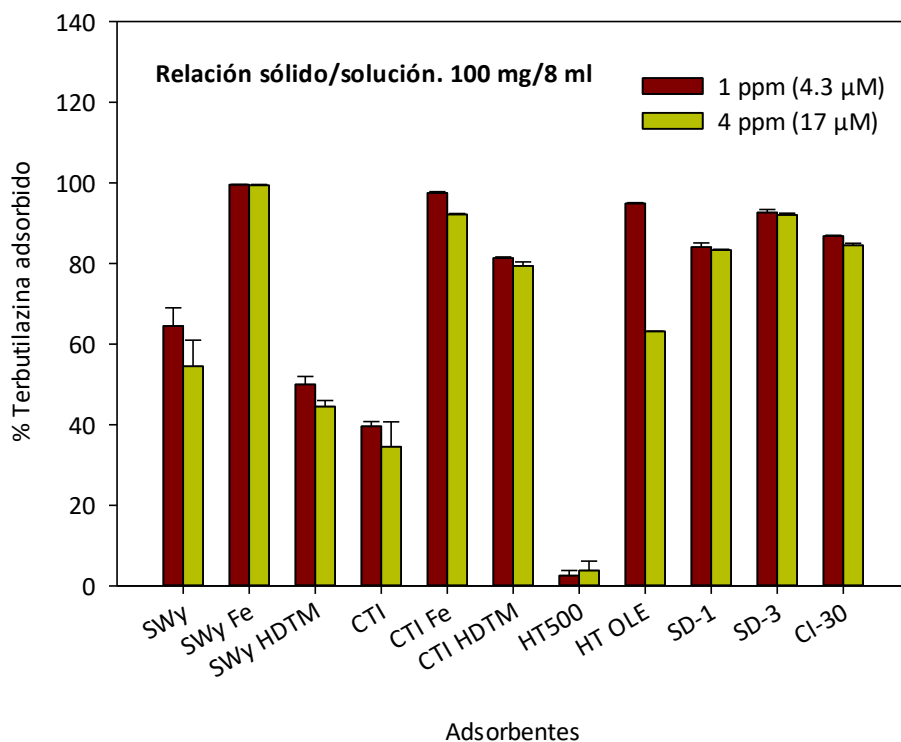


Figura V.4: Porcentaje de adsorción de terbutilazina 1 y 4 ppm a distintos adsorbentes (relación sólido/solución 100 mg/8 ml).

En lo que respecta a la montmorillonita natural SWy, terbutilazina presenta una adsorción media (57%-62%) debido a la baja carga laminar de esta arcilla que permite una adsorción de moléculas neutras de este herbicida en las superficies hidrófobas de la interlámina situadas entre carga y carga (Celis et al., 1997). De hecho, esta baja carga laminar es la responsable de que en la montmorillonita modificada con el alquilamonio HDTMA éste se disponga de forma horizontal (bicapa) en la interlámina de la arcilla, de modo que el espaciado

basal no aumenta de la forma que se esperaría frente a otro tipo de disposición del alquilamonio. Esto tiene como consecuencia que no haya espacio suficiente para la adsorción de terbutilazina en la interlámina y por tanto no sea tan alta dicha adsorción, ante la modificación orgánica realizada con HDTMA en SWy. En el caso de SWy modificada con Fe sí que existe un aumento considerable de la adsorción de terbutilazina ya que este modificador produce una disminución del pH en la superficie de la arcilla, lo que supone para una base débil como terbutilazina ($pK_a = 2.0$), estar protonado y por tanto aumentar la adsorción en la arcilla como catión interlaminar (Celis et al., 1997; Cornejo et al., 2008).

El material arcilloso CTI tiene una naturaleza muy heterogénea como puede comprobarse en la Tabla V.1, en la que el 33% corresponde a filosilicatos, aunque dentro de este grupo el mayor contenido (68%) es esmectita. En cualquier caso, la adsorción en este tipo de materiales se debe fundamentalmente a interacciones polares y/o electrostáticas, de modo que las interacciones hidrofóbicas adquieren poca importancia, y de ahí su baja adsorción. En el caso de CTI-Fe la adsorción de terbutilazina aumenta por el mismo efecto observado en SW-Fe. La modificación de la CTI con el alquilamonio HDTMA aumenta la adsorción de terbutilazina, en un mayor grado que el que se observa para SWHDTM. Esto probablemente sea debido a una mayor carga laminar de la esmectita de la CTI respecto a SWy como lo sugiere su mayor espaciado basal tras el tratamiento con HDTMA de la CTI (19.72 \AA) respecto a SWy (18.0 \AA) (Tabla V.2), lo que hace que la disposición de este alquilamonio de gran volumen se produzca verticalmente (estructura parafínica) en la interlámina permitiendo mayor alojamiento de las moléculas de terbutilazina y por tanto aumentando su adsorción por interacciones hidrofóbicas al alquilamonio (Jaynes y Boyd, 1991; Celis et al., 2002).

Centrándonos en las organoarcillas comerciales, la adsorción de terbutilazina es muy elevada, destacando el importante papel que juegan los modificadores orgánicos en las interacciones hidrofóbicas entre terbutilazina y dichas organoarcillas. Existe poca o nula información sobre la naturaleza de dichos modificadores, por lo que es difícil profundizar en los mecanismos de adsorción. Este hecho es especialmente llamativo en el caso de las organoarcillas comerciales pertenecientes al grupo de las Bentone[®] en las que no existe ningún tipo de información acerca del modificador orgánico utilizado en su preparación. La información de la que se dispone de estas organoarcillas se encuentra en la Tabla V.2, en la que cabe señalar el alto contenido en C, lo que indica un alto contenido en cationes orgánicos y en disposición parafínica, como lo revelan los altos valores de espaciado basal en SD-1 y en SD-3 de 39.42 Å y 33.02 Å, respectivamente. La Cloisite[®] 30B también tiene un alto contenido en C y por tanto en catión orgánico, y aunque de espaciado algo menor (18.73 Å), se corresponde con una estructura casi parafínica (Chevillard et al. 2012b). En todos los casos la adsorción de terbutilazina se debe fundamentalmente a interacciones hidrofóbicas entre el herbicida, poco soluble en agua y por tanto de carácter hidrofóbico, y el modificador orgánico, el cual probablemente también se presente en exceso en su superficie externa.

Uno de los aspectos principales de este capítulo de tesis es encontrar los adsorbentes idóneos para poder ser utilizados en FLC del herbicida terbutilazina, para lo que debe cumplirse un requisito importante y es que dicha adsorción no sea excesivamente alta, de modo que el herbicida pueda ser liberado a la solución del suelo una vez preparada la formulación. Por ello, para este tipo de relación sólido solución, se han elegido como adsorbentes idóneos, por su nivel de adsorción medio, las arcillas SWy, SWHDTM y CTI.

Otro de los objetivos principales de este capítulo es encontrar adsorbentes económicos frente a los adsorbentes ya estudiados en trabajos anteriores, que resultan más costosos en su elaboración y difícilmente aplicables a nivel de campo debido a las bajas cantidades obtenidas en laboratorio. Por ello resultarían más efectivas las arcillas comerciales siempre y cuando se pudiera demostrar su valía a nivel de formulación. A priori, como consecuencia de los altos porcentajes de adsorción de terbutilazina a estas arcillas, éstas no serían aptas para FLC. Sin embargo, finalmente se eligieron las organoarcillas SD-1, SD-3 y Cl-30 (relación sólido/solución 20 mg/8 ml), a fin de comparar la eficacia de los complejos arcilla-herbicida preparados por nosotros con los preparados con dichas muestras comerciales.

V.5.2 Isotermas de adsorción-desorción

Los valores obtenidos en el estudio de adsorción de terbutilazina a distintas concentraciones en los adsorbentes SWy, SWHDTM y CTI se encuentran representados en la isoterma de adsorción de la Figura V.5. En el caso de las isotermas correspondientes a SWy y CTI la isoterma se ajusta al tipo L ($N_f < 1$), mientras que la isoterma correspondiente a SWHDTM es más cercana a una tipo C ($N_f \approx 1$) según la clasificación de Giles et al. (1960). En el caso de SWy y CTI la curva inicial de la isoterma indica que a medida que va transcurriendo el proceso de adsorción las moléculas de soluto encuentran menos espacio libre en el adsorbente donde adsorberse. Para SWHDTM la isoterma tipo C indica que existe una mayor afinidad del herbicida por el adsorbente que por el solvente y que el herbicida además muestra mayor capacidad para penetrar dentro de la fase sólida.

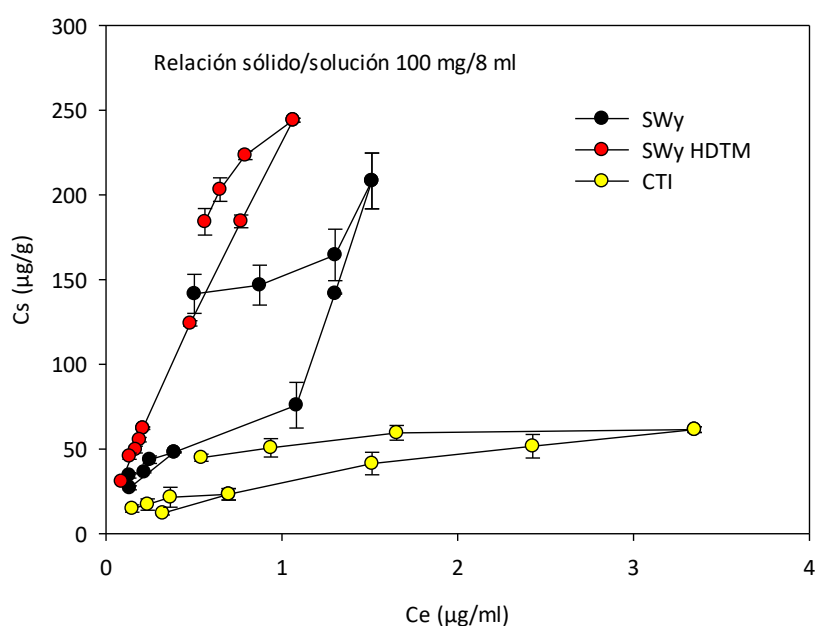


Figura V.5: Isoterma de adsorción-desorción de terbutilazina a las arcillas SWy, SWHDTM y CTI

Los coeficientes que se obtuvieron tras el ajuste de estos valores a la ecuación de Freundlich se encuentran recogidos en la Tabla V.4. Independientemente del tipo de isoterma, la adsorción de terbutilazina en CTI ($K_f = 28.30$) es considerablemente menor a los obtenidos para SWy ($K_f = 108.64$) y SWHDTM ($K_f = 230.14$), valores similares a los encontrados por Trigo (2010). Esta tendencia ya se observó en la prueba inicial de adsorción (Figura V.4), pero no de una forma tan marcada como se ha comprobado en este experimento.

Tabla V.4: Coeficientes de Freundlich para la adsorción de terbutilazina en las arcillas SW, SWHDTM y CTI a una relación sólido/solución de 100mg/8ml

Arcilla	K_f	N_f	R^2
SW	108.64 (92.35-127.80)	0.74 ± 0.16	0.879
SWHDTM	230.14 (228.65-231.64)	0.83 ± 0.01	0.999
CTI	28.38 (27.33-29.46)	0.69 ± 0.06	0.988

La desorción de terbutilazina en estos adsorbentes también se encuentra representada en la Figura V.5 mediante las ramas de desorción a las concentraciones de 1 y 4 ppm, y en la Tabla V.5, donde se recogen los coeficientes de Freundlich para la desorción en dichas concentraciones y el coeficiente de histéresis (H). Tanto en la isoterma como en los coeficientes de desorción se observa en la mayoría de los casos una reversibilidad media en la adsorción, con valores de H entre 0.40 y 0.52, a excepción de los casos de SWHDTM a una concentración de 1 ppm donde la adsorción es bastante reversible, y de CTI, a una concentración de 4 ppm, donde la adsorción se vuelve más irreversible. Sin embargo, en los porcentajes desorbidos de terbutilazina en estos adsorbentes no se observan grandes diferencias, los cuales se encuentran en un rango entre el 25 y el 36%, lo que implica una homogeneidad en el comportamiento de todos estos adsorbentes a la hora de la capacidad de terbutilazina de desorberse de los mismos. A priori estas arcillas muestran características que las hace propicias para ser utilizadas como FLC basándonos en los niveles de reversibilidad obtenidos.

Tabla V.5: Coeficientes de Freundlich para la desorción de terbutilazina en las arcillas SW, SWHDTM y CTI a dos concentraciones (1 y 4 ppm)

Arcilla	K_{fd}	N_{fd}	R^2	H	% Desorción
SW (1 ppm)	64.77 (55.90-75.06)	0.32 ±0.09	0.847	0.43	28
SWHDTM (1 ppm)	166.34 (130.62-211.84)	0.65 ±0.14	0.918	0.78	26
CTI (1 ppm)	27.04 (1.40-1.46)	0.30 ±0.05	0.935	0.43	36
SW (4 ppm)	165.19 (155.79-175.17)	0.29 ±0.14	0.700	0.40	32
SWHDTM (4 ppm)	241.55 (236.33-246.87)	0.43 ±0.06	0.966	0.52	25
CTI (4 ppm)	51.29 (49.88-52.73)	0.18 ±0.04	0.916	0.26	27

En la Figura V.6 se muestran las isothermas de adsorción-desorción de terbutilazina en los adsorbentes SD-1, SD-3 y CI-30 a la relación sólido/solución seleccionada para ellos (20 mg/8 ml). Los coeficientes de la adsorción ajustados a la ecuación de Freundlich también son calculados y recogidos en la Tabla V.6. Tal y como se observó en la prueba preliminar de adsorción, estas organoarcillas muestran una capacidad adsorbente mayor (valores de K_f de 465.58, 1205.03 y 476.43 para SD-1, SD-3 y CI30, respectivamente) que las arcillas anteriores, especialmente al ser comparada con la también organoarcilla SWHDTM (K_f = 230.74), ya que es la que presenta el valor de N_f similar, siendo éste el factor determinante a la hora de realizar comparaciones. Las tres organoarcillas comerciales muestran valores de $N_f \approx 1$, ajustándose a una isoterma tipo C según la

clasificación de Giles et al. (1960) lo que implica una gran afinidad del herbicida por el adsorbente. Aunque no existen trabajos en los que se estudien las organoarcillas comerciales SD-1 y SD-3, sí hay trabajos como el de Suciu y Capri (2009), en el que observaron una mayor adsorción del insecticida clorpirifos, con solubilidad similar a terbutilazina, en la organoarcilla CI-30 respecto a esta misma arcilla sin modificar.

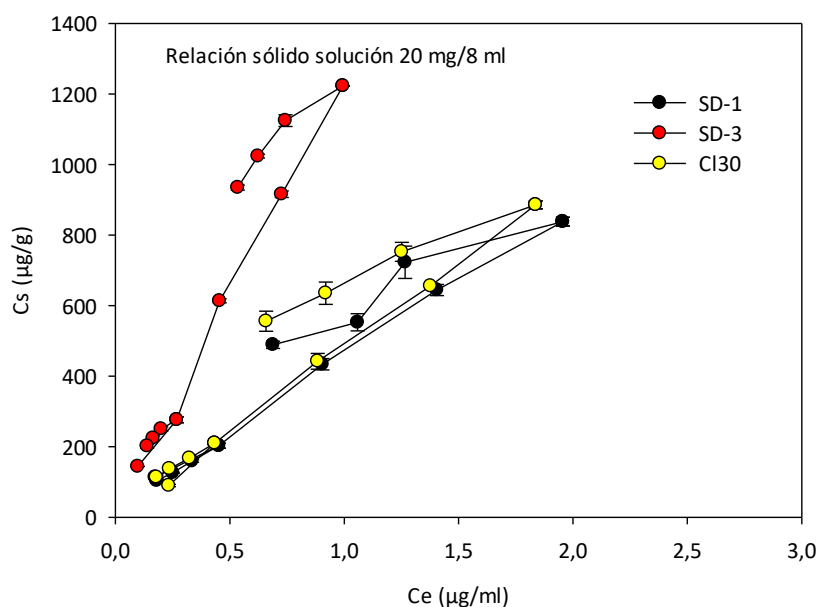


Figura V.6: Isotherma de adsorción-desorción de terbutilazina a las arcillas SD-1, SD-3 y CI30.

Tabla V.6: Coeficientes de Freundlich para la adsorción de terbutilazina en las arcillas SD-1, SD-3 y CI-30 a una relación sólido/solución de 20mg/8ml

Arcilla	K_f	N_f	R^2
SD-1	465.58 (443.10-489.21)	0.85 ± 0.05	0.988
SD-3	1205.03 (1090.63-1331.43)	0.95 ± 0.08	0.979
CI-30	476.43 (457.76-495.86)	1.089 ± 0.05	0.994

En la Tabla V.7 se recogen los valores de los coeficientes de desorción tras el ajuste a la ecuación de Freundlich, observándose una tendencia a una reversibilidad media en la adsorción (valores de H entre 0.43 y 0.64), aunque ligeramente superior a la observada en el anterior grupo de arcillas. El caso de SD-1 (a una concentración de 1 ppm) parece salirse de esta media ya que presenta una mayor reversibilidad ($H = 0.86$) que las observadas en el resto de los casos. Al igual que en el grupo de arcillas SWy, SWHDTM y CTI, estas organoarcillas presentan unos porcentajes de desorción muy parecidos entre ellos, lo que nos asegura un comportamiento homogéneo a la hora de utilizar las organoarcillas comerciales como soportes para FLC.

Tabla V.7: Coeficientes de Freundlich para la desorción de terbutilazina a las organoarcillas SD-1, SD-3 y CI-30 a dos concentraciones (1 y 4 ppm)

Arcilla	K_{fd}	N_{fd}	R^2	H	% Desorción
SD-1 (1 ppm)	357.27 (338.84-376.70)	0.73 ±0.04	0.994	0.86	49
SD-3 (1 ppm)	523.60 (482.06-568.72)	0.47 ±0.05	0.979	0.50	27
CI-30 (1 ppm)	368.13 (367.13-369.13)	0.68 ±0.002	0.998	0.63	46
SD-1 (4 ppm)	587.49 (560.70-615.56)	0.54 ±0.12	0.917	0.64	42
SD-3 (4 ppm)	1244.51 (1216.30-1273.38)	0.43 ±0.05	0.969	0.45	24
CI-30 (4 ppm)	669.88 (665.03-674.78)	0.46 ±0.02	0.997	0.43	37

V.5.3 Preparación de complejos

Como ya se describió en el apartado V.4.2, se realizó una extracción con metanol de los complejos arcilla-terbutilazina con el objeto de comprobar la eficiencia en la preparación de los mismos, y cuyos resultados se encuentran resumidos en la Tabla V.8.

Tabla V.8: Porcentaje de terbutilazina retenido en los complejos tras su preparación

Complejos	SWy	SWHDTM	CTI	SD-1	SD-3	CI-30
4%	CF	69.5	63	78	-	-
	CD	77.5	87.5	86	-	-
	MF	90	95	98	-	-
10%	CF	-	-	-	95	90.0
	CD	-	-	-	97	98.2
	MF	-	-	-	105	95.7
20%	CF	-	-	-	83	90.2
	CD	-	-	-	92.5	94.5
	MF	-	-	-	96	97.4

Una visión general de los datos incluidos en dicha tabla, permite confirmar una alta eficiencia en la preparación de los complejos, especialmente patente en el caso de las organoarcillas comerciales, donde la eficiencia se establece entre el 83% y el 105%. En el caso de los complejos preparados de forma fuerte y débil al 4% (SWy, SWHDTM y CTI), la cantidad recuperada de terbutilazina en estos complejos fue menor, con una eficiencia en la preparación entre el 63% y el 87.5%. Aunque se pueden asumir errores a la hora de la preparación de dichos complejos, la menor cantidad de terbutilazina extraída de estos complejos respecto a los complejos al 10% y 20% (SD-1, SD-3 y CI-30) puede estar relacionada con la concentración del herbicida en los distintos complejos, estableciéndose una adsorción más irreversible en las arcillas SWy, SWHDTM y CTI que en SD-1, SD-3 y CI-30. Autores como Celis y Koskinen (1999) han sugerido que para plaguicidas como triadimefon e imidacloprid-guanidina, los sitios de adsorción irreversible en un adsorbente se ocupan antes a concentraciones bajas

que a concentraciones altas. Sin embargo, tampoco es descartable algún proceso de degradación de terbutilazina que haga que disminuya la concentración de este herbicida en los complejos al 4%. Algunos autores han encontrado que en un medio alcohólico como metanol, la alta polarización de las moléculas de agua que pueden permanecer en la superficie de las arcillas puede promover la protonación de moléculas de simazina, la cual se transforma fácilmente mediante hidrólisis química a hidrox-simazina (Russell et al., 1968; Celis et al., 1997; Cox et al; 2000).

En líneas generales, la tendencia que se sigue en cuanto al contenido de herbicida en los complejos, es siempre la misma, es decir, $CF < CD < MF$, independientemente de la cantidad de terbutilazina con la que se ha preparado el complejo (4%, 10% o 20%), lo que claramente indica que la presencia de metanol como solvente y el tiempo de interacción soporte-herbicida-metanol aumenta la interacción entre los dos primeros, haciendo que las moléculas del herbicida en el caso de los CFs alcancen sitios probablemente interlaminares de los que no se liberan fácilmente. Una excepción son los casos de los complejos realizados al 10% con SD-1 y CI-30, en los que el contenido en terbutilazina es ligeramente inferior en MF que en CD.

No obstante, las cantidades de herbicida encontrados en los diferentes complejos tras esta extracción han sido tenidos en cuenta a la hora de realizar todos los cálculos en los diferentes experimentos realizados con dichos complejos.

V.5.4 Estudio de liberación en agua

Las cinéticas de liberación en agua, en modo estático, del herbicida terbutilazina de las diferentes FLCs, nos permiten comprobar qué cantidad de plaguicida va a pasar a la solución del suelo y por tanto tener un efecto en la

contaminación de las aguas. Los datos obtenidos en la liberación de terbutilazina de los complejos al 4% (SW, SWHDTM y CTI) se han representado en la Figura V.7 (a, b y c).

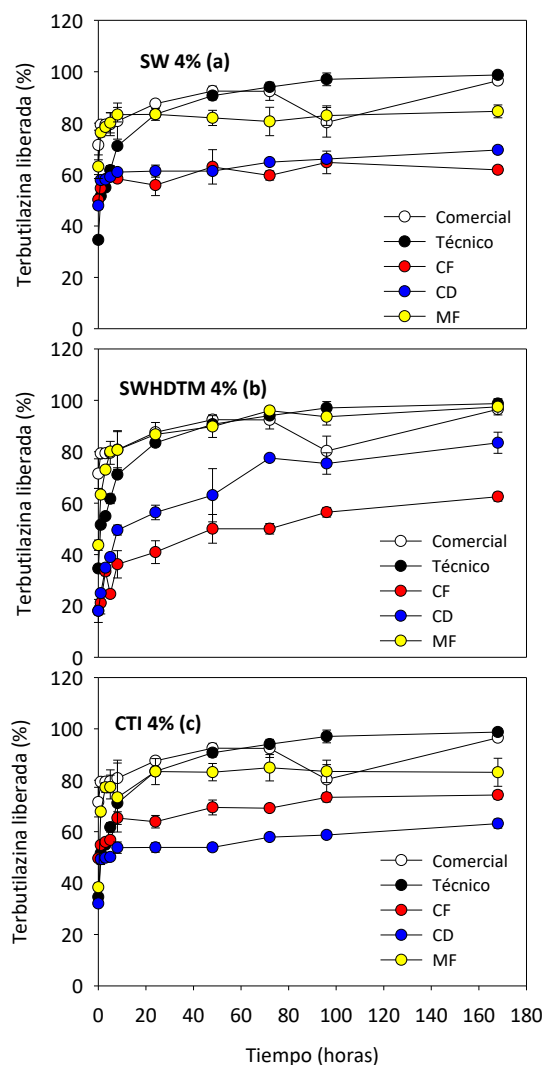


Figura V.7: Cinética de liberación en agua de terbutilazina de los complejos preparados al 4% en los distintos adsorbentes: (a) SWy; (b) SWHDTM; (c) CTI.

Centrándonos en detalle en las distintas gráficas, podemos comprobar que en el caso de las formulaciones al 4% (Figura V.7) el máximo de terbutilazina liberada en agua se alcanza prácticamente a las 24 horas en los casos de SW (a) y CTI (c), mientras que en el caso de SWHDTM (b) y de terbutilazina comercial y técnica, éste no se alcanza hasta más tarde. Sin embargo, la cantidad de terbutilazina liberada en SWHDTM, fundamentalmente en las formulaciones con CD y MF (83% y 97%, respectivamente) es mayor que en SW y CTI (65% y 85% en ambos casos, respectivamente). Este resultado está de acuerdo con el mayor coeficiente de histéresis (H) observado en SWHDTM respecto a SW y CTI, el cual es representativo de una mayor reversibilidad de terbutilazina en el adsorbente (Tabla V.5), y cuyos resultados fueron similares a los encontrados por Trigo et al. (2009) en la liberación en agua del herbicida diuron del complejo SWHDTM. Respecto a la forma en la que se han realizado los complejos, destacar que la formulación con MF libera en todos los casos más terbutilazina (80%-95%) que las formulaciones con CD y CF, lo cual es lógico ya que en el caso de MF no entran en juego procesos de adsorción entre el herbicida y el adsorbente, como si ocurre en el resto de formulaciones (Aguer et al., 2000b; Hermosín et al., 2001). Siguiendo esta misma lógica, la cantidad de terbutilazina liberada en agua debe ser mayor en el caso de las formulaciones con CD que con CF, fundamentalmente debido al mayor tiempo de interacción del herbicida con el adsorbente que ocurre en este último caso, sin embargo en el caso de CTI esto no sucede así, liberándose mayor cantidad de terbutilazina en CF que en CD.

En las Figuras V.8, V.9 y V.10 se representan las gráficas de la liberación en agua de terbutilazina en SD-1 (10% y 20%), SD-3 (10% y 20%) y CI-30 (10% y 20%), respectivamente.

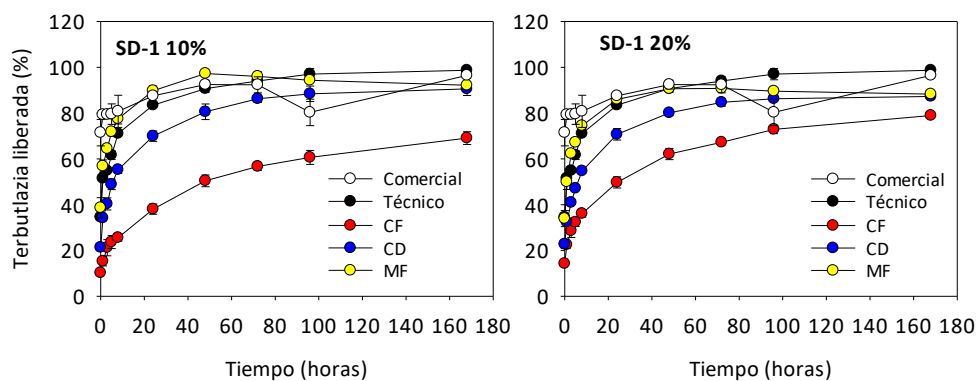


Figura V.8: Cinética de liberación de terbutilazina en agua a partir de la formulación al 10% y 20% de SD-1

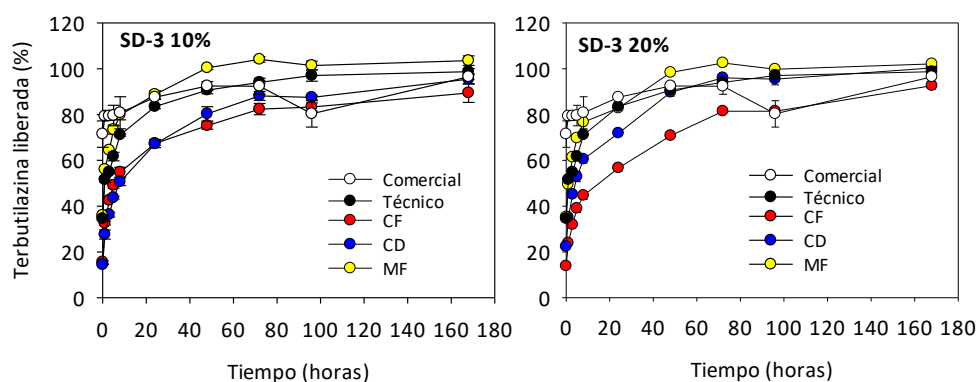


Figura V.9: Cinética de liberación de terbutilazina en agua a partir de la formulación al 10% y al 20% de SD-3.

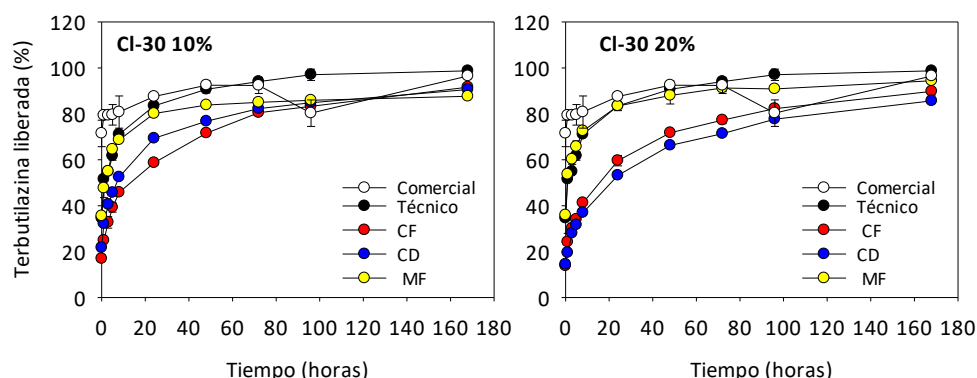


Figura V.10: Cinética de liberación de terbutilazina en agua a partir de la formulación al 10% y al 20% de CI-30.

En las Figuras V.8, V.9 y V.10 se observa la liberación de terbutilazina en agua de las formulaciones con organoarcillas comerciales SD-1, SD-3 y CI-30, respectivamente, y ésta es mayor en todos los casos (80%-100%) que la cantidad medida en las formulaciones al 4%, lo que está de acuerdo con el mayor coeficiente de histéresis obtenido en las organoarcillas comerciales respecto a las formulaciones al 4% (Tabla V.7). Además, no existen grandes diferencias entre los distintos complejos (CF, CD y MF), ni entre las dos proporciones de terbutilazina con las que se han preparado los complejos (10% y 20%), a excepción de la formulación SD-1 al 10% con CF, en el que se recupera menor cantidad de terbutilazina. Chevillard et al. (2012b) demostraron que el tipo de complejo (CF, CD y MF) tenía poco aunque significativo efecto en las cinéticas de liberación del herbicida etofumesato de complejos realizados con montmorillonitas comerciales entre las que se encontraba la CI-30. La falta de diferencia entre los tipos de complejos preparados puede ser debido a una alteración de la fracción orgánica de estas organoarcillas (alquilamonio) con el disolvente orgánico utilizado (metanol) de modo que acaben perdiendo ciertas propiedades adsorbentes y todos actúen de una forma similar en la liberación. En cualquier caso, esta

similitud entre formulaciones y complejos nos permite poder elegir cualquiera de estas formulaciones para los propósitos planteados originariamente, ya que presentan una homogeneidad en su comportamiento que no muestran los complejos realizados con menor proporción de arcilla (4%) y con arcillas como SWy y CTI. Sin embargo, para el resto de experimentos (lixiviación y bioensayo) se van a seguir utilizando las FLCs preparadas al 4% y al 20% así como los tres tipos de complejos CF, CD y MF, para confirmar la idoneidad de los adsorbentes elegidos en la reducción de la contaminación de aguas por parte del herbicida terbutilazina.

V.5.5 Estudio de lixiviación

En este experimento se ha querido comprobar la cantidad de terbutilazina lixiviada de las distintas formulaciones en una columna de suelo dedicado al olivar, lo que nos puede dar información acerca del efecto reductor de las distintas formulaciones en la contaminación por este plaguicida de aguas subterráneas. Los datos de las cantidades de terbutilazina encontradas en los lixiviados, tanto en forma relativa (mg/l) como acumulada al final del experimento (%), se encuentran representados en la Figura V.11, para formulaciones al 4% ,y en la Figura V.12 para formulaciones al 20%. Al igual que ocurría con el experimento de liberación en agua, la lixiviación de terbutilazina en la columna de suelo a partir de las formulaciones preparadas con SW y CTI siguen una tendencia similar entre ellas y ligeramente diferenciada de la observada en SWHDTM. Tanto en SW como en CTI el máximo de elución de las distintas formulaciones y del producto comercial se alcanza tras la aplicación de 300 ml de agua, mientras que en SWHDTM sí puede observarse un ligero retraso en la aparición del máximo de elución respecto al herbicida comercial, el cual ocurre tras la aplicación de 400 ml

de agua. Este último comportamiento es típico de formulaciones de liberación lenta cuyo soporte es una organoarcilla, debido a las interacciones hidrofóbicas que se establecen entre el herbicida y el componente orgánico (alquilamonio) de esta organoarcilla (Hermosín et al, 2006). En cualquier caso, la elución de terbutilazina para todas las formulaciones y tipos de complejos se encuentran por debajo (entre 0.10 mg/l y 0.24 mg/l) del observado para el compuesto comercial (0.33 mg/l), lo que corrobora el efecto de liberación lenta que se busca con todas las formulaciones preparadas. Centrándonos en las cantidades totales de terbutilazina recuperadas al final del experimento y expresadas en forma de porcentaje de herbicida acumulado (Figura V.11) éstas son ligeramente superiores en el caso de la formulación con SWDTM, y más en concreto en los complejos MF y CD donde se recupera un 66% y 61% respectivamente, lo que está de acuerdo con los datos de histéresis encontrados en el estudio de adsorción y con los resultados del experimento de liberación. Además en este tipo de formulación (SWHDTM), las diferencias que se establecen entre estos tipos de complejos (CD y MF) y el complejo CF (35%) resulta mucho más marcada que en las formulaciones con SW y CTI. Concretamente, en el caso de CTI, no existen prácticamente diferencias entre los tres tipos de complejos CF, CD y MF (55%, 52% y 63%, respectivamente), lo que hace que la utilización, a priori, de esta formulación como FLC pueda realizarse sin distinción del tipo de complejo preparado.

Una vez finalizado el experimento de lixiviación se realizó una extracción de la terbutilazina que permanecía en el suelo, de modo que este dato junto con los anteriores nos ha permitido hacer un seguimiento del herbicida a lo largo de todo el proceso. Los resultados obtenidos se encuentran recogidos en la Tabla V.9, en la que resulta evidente el alto porcentaje de terbutilazina comercial recuperado en el experimento de lixiviación (94%), fundamentalmente lixiviado (86%) y en menor medida extraído del suelo (8%), poniendo de manifiesto el bajo efecto de

los procesos de degradación y/o adsorción irreversible de terbutilazina en este suelo y bajo las condiciones en las que se ha realizado el experimento. Respecto a las distintas formulaciones, las cantidades de terbutilazina extraídas del suelo son bastante similares en la mayoría de los casos (10%-15%), a excepción de los complejos CF y CD de la formulación con SWHDTM en los que esta cantidad es ligeramente superior, 20%-26% respectivamente. Como ya se ha comentado en apartados anteriores, esta formulación (SWHDTM) es en la que terbutilazina presenta mayor reversibilidad en la adsorción y por tanto es lógico que se recupere mayor cantidad de herbicida en la extracción. Una vez realizado el balance de la cantidad de terbutilazina recuperada en el experimento, tanto lixiviada como extraída, podemos conocer las cantidades de terbutilazina no recuperadas, o al menos no accesibles a la extracción con disolvente orgánico, de modo que éstas son superiores en los complejos CF de todas las formulaciones, encontrándose en un rango entre el 35% para CTI, el 45% para SWHDTM y el 51% para SW. Esto se debe principalmente al proceso de adsorción que se establece entre el herbicida y el adsorbente a la hora de la preparación de dichos complejos. En cuanto a las menores cantidades de terbutilazina no recuperadas se encuentran en los complejos MF de SW y CTI (32% y 25% respectivamente), exceptuando el caso de SWHDTM, donde estas cantidades más bajas se encuentran en el complejo CD (12%), lo que está de acuerdo con las mayores cantidades de terbutilazina recuperadas tanto en lixiviados como en la extracción de suelo en este complejo y en esta formulación.

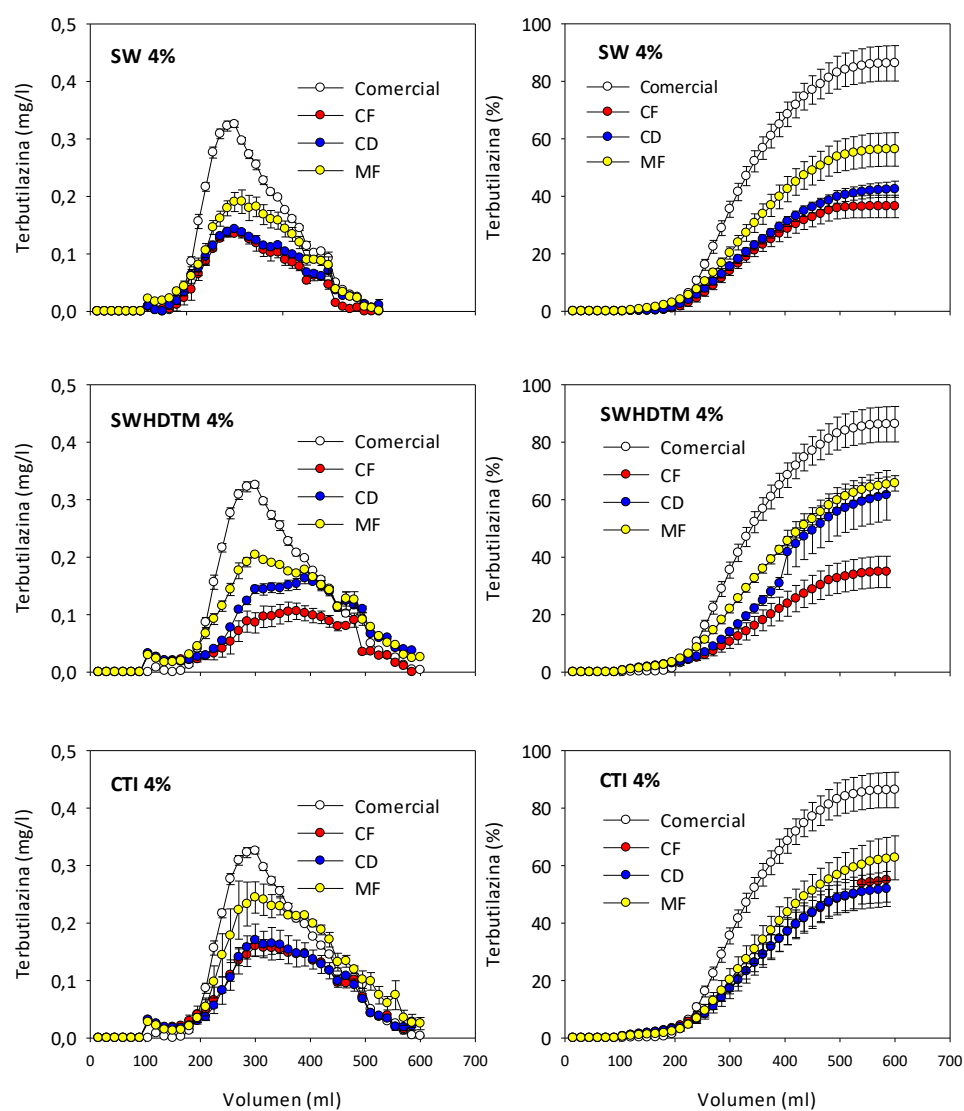


Figura V.11: Curvas de elución relativas (izquierda) y acumuladas (derecha) de terbutilazina en las columnas de suelo para las formulaciones al 4%

Tabla V.9: Cantidad total lixiviada, extraída y no recuperada (N.R.) de terbutilazina al final del experimento de lixiviación en porcentaje respecto al aplicado como formulación al 4%

	SW				SWHDTM				CTI	
	Comercial	CF	CD	MF	CF	CD	MF	CF	CD	MF
Lixiviado	86	36	42	56	35	61	66	55	52	63
Extraído	8	13	13	12	20	26	10	10	15	12
N. R. ^a	6	51	45	32	45	13	24	35	33	25

^aN.R.: No recuperada

Los datos obtenidos del experimento de lixiviación realizado con las formulaciones de organoarcillas comerciales (al 20%) se han representado mediante curvas de elución, tanto relativas como acumuladas, en la Figura V.12. Lo más destacable es la similitud en la lixiviación de terbutilazina en los tres tipos de complejos y para los tres tipos de formulaciones. Respecto al frente de elución, que se representa gráficamente mediante las curvas de elución relativa, se observa un comportamiento de liberación muy lenta del herbicida en las diferentes formulaciones respecto a la formulación comercial, caracterizándose por: rápida liberación del herbicida tras los primeros volúmenes de agua aplicados; reducción considerable de las máximas concentraciones eluidas (en mg/l); formas de las curvas muy achatadas por ausencia de un máximo de elución y desplaza hacia la derecha; mayores volúmenes de agua aplicados hasta la completa elución del herbicida. Este comportamiento es parecido al que presentaba la formulación SWHDTM en el caso de las formulaciones al 4%, aunque no de una forma tan marcada, el cual corresponde también a una organoarcilla. De forma que la aplicación diaria de agua en este experimento hace que se produzca una pequeña pero continua desorción de terbutilazina de la parte orgánica de estas arcillas en este tipo de formulaciones (Hermosín et al., 164

2006).

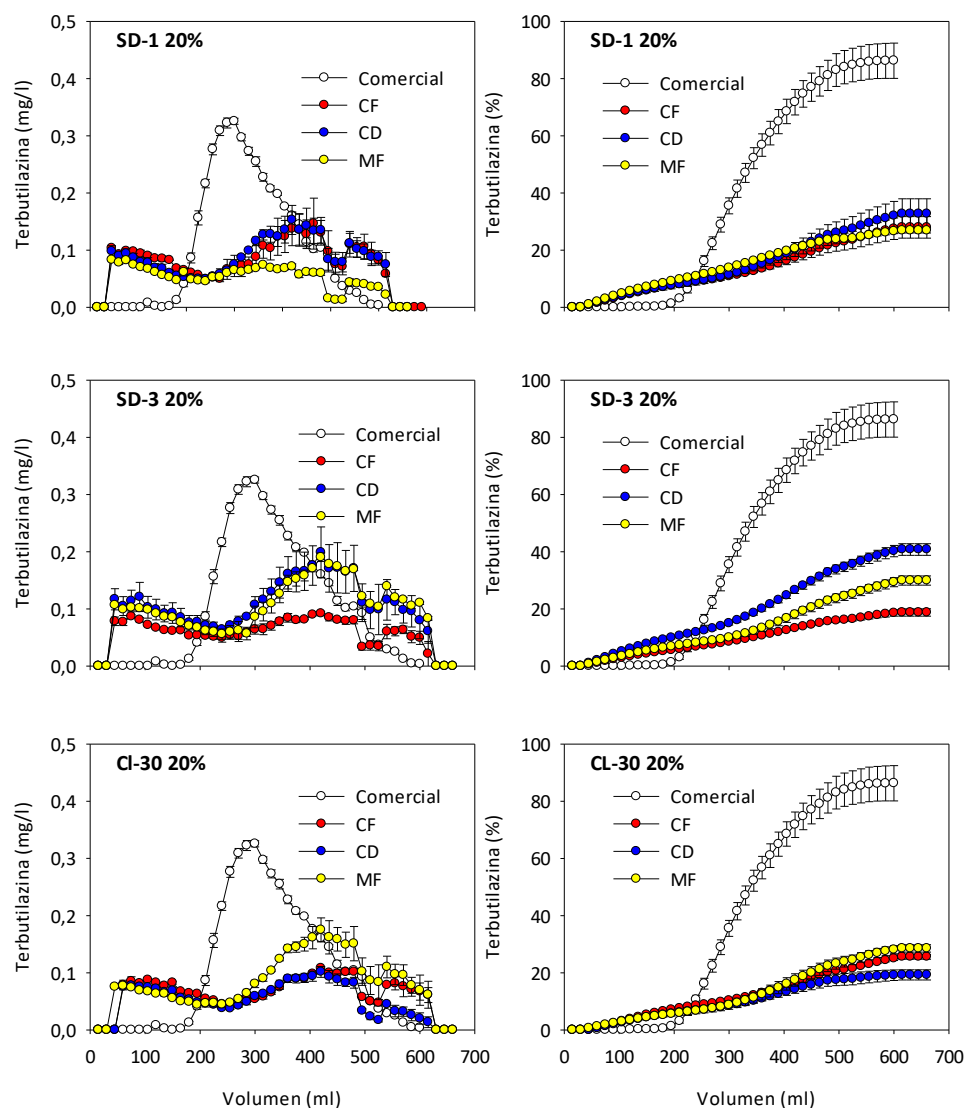


Figura V.12: Curvas de elución relativas (izquierda) y acumuladas (derecha) de terbutilazina en las columnas de suelo para las formulaciones al 20% (organoarcillas comerciales).

Las concentraciones totales lixiviadas al final del experimento y representadas como curvas de elución acumuladas (Figura V.12) indican una alta reducción en las cantidades totales de terbutilazina lixiviada respecto al herbicida comercial. Esta reducción supone entre un 52% y un 78% respecto a la cantidad total de terbutilazina comercial lixiviada (86%). Los porcentajes totales recuperados de terbutilazina respecto al aplicado, durante la lixiviación, son bastante homogéneos para los tres tipos de complejos (CF, CD y MF) en las formulaciones SD-1 y CI-30 siendo aproximadamente del 29% y del 24%, respectivamente, tal y como puede observarse en la Figura V.12 y en la Tabla V.10. Este comportamiento está en concordancia con el que se ha podido comprobar durante el experimento de liberación en agua para este tipo de formulaciones, en los que no había diferencia entre los distintos complejos preparados. Sin embargo, sí se observan ligeras diferencias en el comportamiento entre los tres tipos de complejos preparados para la formulación SD-3, recuperándose más terbutilazina en los lixiviados del complejo CD (41%) respecto a MF (30%) (Tabla V.10). De todas formas, tal y como se apuntó en el experimento de liberación en agua, no es desdeñable el posible efecto que puede tener el disolvente orgánico utilizado en la preparación de estos complejos sobre el modificador orgánico utilizado para la preparación de estas organoarcillas comerciales, de modo que el comportamiento esperado para los distintos complejos resulta poco evidente.

Al igual que para los complejos al 4%, se ha realizado un balance de las cantidades de terbutilazina recuperadas en los lixiviados y que permanecen en la columna de suelo, lo que finalmente nos aporta información acerca de la cantidad de terbutilazina no recuperada durante el proceso de lixiviación. En líneas generales, las cantidades de terbutilazina extraídas del suelo en las formulaciones al 20% con organoarcillas comerciales son ligeramente superiores (15%-33%) a las

extraídas para las formulaciones al 4% (10%-26%), a excepción del caso concreto del complejo CD en la formulación CI-30 en el que la cantidad extraída es muy baja (8%). Este último caso se traduce en un alto porcentaje de terbutilazina no recuperada (73%) debida a procesos de adsorción irreversible y/o degradación. Sin embargo este resultado no se corresponde con los observados para este complejo y formulación en el experimento de liberación, donde el complejo CD y CF tenían un comportamiento muy parecido, llegando a liberar el 80% en ambos complejos. Esto nos lleva a pensar que este resultado anormal observado en la lixiviación de terbutilazina de la formulación CI-30 y del complejo CD probablemente sea debido a errores cometidos durante la pesada, las cuales han sido relativamente bajas. Respecto a las cantidades de terbutilazina no recuperada en el resto de complejos y formulaciones se puede observar que no existen grandes diferencias entre ellos (34%-57%), tal y como se ha demostrado en los experimentos realizados con anterioridad con estas formulaciones. Esto en un principio tiene una aplicación directa y es el poder utilizar cualquiera de estas formulaciones y complejos para la reducción del riesgo que presenta terbutilazina en la contaminación de aguas superficiales y subterráneas.

Tabla V.10: Cantidad total lixiviada, extraída y no recuperada de terbutilazina al final del experimento de lixiviación en porcentaje respecto al aplicado como formulación al 20%

	Comercial	SD-1			SD-3			CI-30		
		CF	CD	MF	CF	CD	MF	CF	CD	MF
Lixiviado	86	28	33	27	19	41	30	25	19	28
Extraído	8	29	33	25	27	16	17	20	8	15
N. R.^a	6	43	34	48	54	43	53	55	73	57

^aN.R.: No recuperado

V.5.6 Bioensayo

Una vez realizados los experimentos preliminares para poder seleccionar las formulaciones idóneas para minimizar los riesgos asociados a la aplicación de terbutilazina en la contaminación de aguas cercanas al olivar, es fundamental realizar experimentos que nos permitan determinar si además mantienen su capacidad biocida, como es el bioensayo. Los resultados obtenidos de este experimento corresponden a la biomasa, en g de peso fresco, de la parte aérea de *Chenopodium álbum*, los cuales fueron sometidos a un análisis estadístico utilizando el test paramétrico de análisis de varianza ANOVA para comprobar si las diferencias entre las medias son significativas. Sin embargo debido al bajo número de replicados, las diferencias entre las medias no son lo suficientemente grandes como para descartar que sean debidas al azar. Los resultados igualmente se han representado como biomasa (g) medida en todas las formulaciones previamente seleccionadas (comercial, al 4% y al 20%) y en los distintos complejos preparados (CF, CD y MF) y se han comparado con la biomasa medida en los ensayos control (sin aplicación de herbicida) (Figura V.13). Un dato que resulta llamativo es el hecho de que el tratamiento con el herbicida en su formulación comercial no resulte en una efectividad total, ya que aunque la biomasa calculada sea inferior a la del control, ésta debería ser nula. Probablemente un alargamiento en el tiempo del experimento nos hubiera permitido comprobar la mayor efectividad de esta formulación así como observar mayores diferencias entre los distintos tratamientos, sin embargo el ahilamiento observado en las plantas resultaba un factor limitante por lo que se decidió finalizar el experimento. Un dato que resultó llamativo fue observar como existía un mayor desarrollo del sistema radicular en el caso de las plantas sin tratamiento herbicida respecto a las plantas con tratamiento comercial y con tratamiento con FLC, tal y como puede comprobarse en la Figura V.14, en la que se eligió un tratamiento al azar a modo comparativo

(T9= CTI MF). Esto confirma que un estudio a más largo plazo nos hubiera permitido observar mayores diferencias entre los distintos tratamientos, incluyendo el tratamiento con la formulación comercial. Son varios los trabajos que demuestran la mayor eficacia de nano-formulaciones de ingredientes activos de plaguicidas, fundamentalmente herbicidas e insecticidas, respecto al producto comercial (Celis et al., 2002; Loha et al., 2012; Pankaj et al., 2012). Sin embargo esta mayor eficacia suele hacerse más evidente una vez transcurrido un plazo largo de tiempo (30 días) debido probablemente más a la lenta liberación del ingrediente activo que a una rápida absorción del mismo por parte del organismo al que va dirigido (Kah y Hofman, 2014).

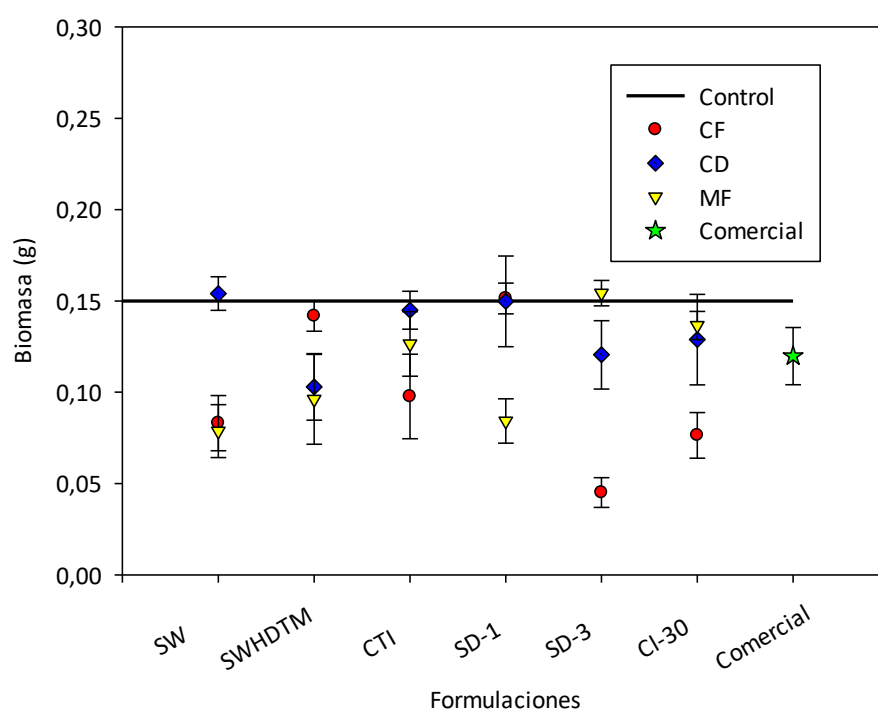


Figura V.13: Biomasa medida en el bioensayo realizado con las formulaciones comercial, al 4% (SW, SWHDTM y CTI) y al 20% (SD-1, SD-3 y CI-30), y con los complejos CF, CD y MF.

En la gráfica representada en la Figura V.14 puede comprobarse que al menos uno de los complejos preparados para cada uno de los tratamientos no resulta efectivo como tratamiento herbicida, al presentar la misma cantidad de biomasa que el tratamiento control (0.15 g), aunque existen algunos casos en los que la acción herbicida resulta bastante evidente como es el tratamiento con SD-3 CF (0.048 g). Con independencia de estos resultados irregulares, para el resto y gran mayoría de los tratamientos con FLC, los resultados muestran que éstos son efectivos al presentar una biomasa inferior o igual al tratamiento comercial (0.12 g) confirmandose lo que se venía persiguiendo: formulaciones que reducen la liberación de terbutilazina al medio y por tanto la contaminación de aguas, pero que a su vez resultan efectivas a la hora de la eliminación de las malas hierbas objeto del tratamiento.

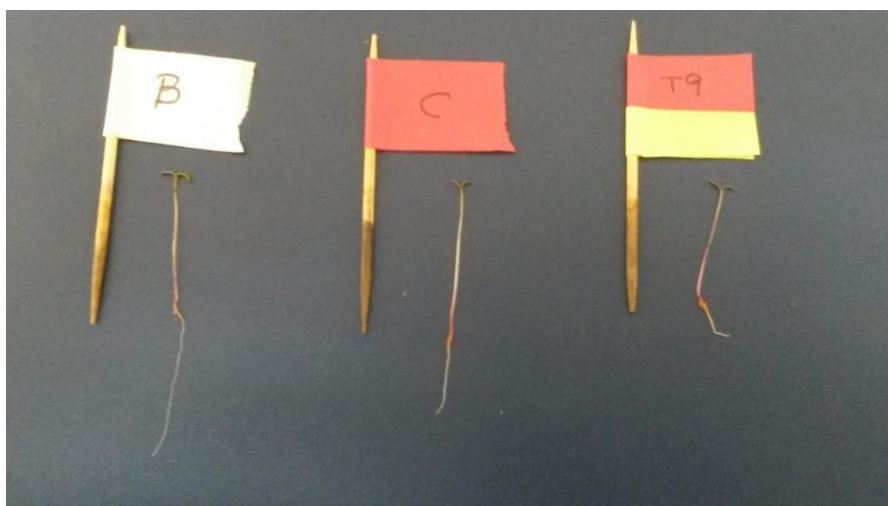


Figura V.15: Diferencias en el crecimiento del sistema radicular según el tipo de tratamiento (B= sin tratamiento de herbicida; C= tratamiento con herbicida comercial; T9= tratamiento con CTI MF)

V.6 CONCLUSIONES

Los adsorbentes SWy natural y modificada con hexadeciltrimetilamonio y CTI (arcilla blanca de Bailen) se seleccionaron como soportes para las formulaciones de liberación controlada por mostrar una adsorción media-alta y cierta reversibilidad. Se seleccionaron igualmente las orgadoarcillas comerciales SD1, SD2 (Bentone®) y CI-30 (Cloisite®) a fines comparativos.

Los 3 tipos de complejos arcilla-terbutilazina preparados (mezcla física, complejo débil y complejo fuerte) en los seis soportes elegidos presentan un perfil típico de liberación en agua, liberando entre 60-98% tras 180hrs de contacto. Todos los complejos arcilla-terbutilazina ofrecían una importante y diversa reducción, tanto del pico de concentración de lixiviación máxima (desde 1/3 a 2/3) como de la cantidad total eluída (desde un 23% a un 78%), representando una importante ventaja medioambiental respecto a la formulación comercial. Además todos los complejos presentaban una actividad biocida equivalente a la formulación comercial, revelando su viabilidad de aplicación.

Todo ello indica que el uso de arcillas comerciales, e incluso de arcillas de bajo valor como CTI, como soportes de complejos arcillas-terbutilazina, en formulaciones de liberación lenta resultarían viables en la minimización del riesgo de contaminación de aguas cercanas a zonas olivareras con el herbicida terbutilazina.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES GENERALES

VI. CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados obtenidos en los distintos estudios en los que se ha basado esta tesis, y que han sido resumidos en tres capítulos principales, han dado lugar a una serie de consideraciones finales, las cuales se encuentran detalladas en las siguientes conclusiones generales:

- Capítulo III:
 1. Los estudios de campo, y bajo sistema de laboreo tradicional, ponen de manifiesto que el potencial contaminante del herbicida terbutilazina está ligado fundamentalmente a procesos de lixiviación y en menor medida a procesos de escorrentías, mientras que para el herbicida oxifluorfen, cuya solubilidad en agua es considerablemente más baja, es justo lo contrario. De este modo se ven favorecidos los procesos de contaminación de aguas subterráneas, en el caso del herbicida terbutilazina, y de aguas superficiales, en el caso del herbicida oxifluorfen. Si bien en ambos casos, el flujo preferente a través de grietas y/o canales puede provocar igualmente la contaminación de aguas subterráneas, como ha sido constatado por monitoreo anterior.
 2. A nivel de laboratorio con suelo en el que se ha establecido cubierta vegetal, se demuestra que además de su papel como barrera física contra la escorrentia, estas cubiertas podrían favorecer los procesos de adsorción ligada al aumento de la materia orgánica del suelo asociado a estas cubiertas, minimizando de esta forma también la lixiviación de este herbicida.

- Capítulo IV:

1. La enmienda del suelo con compost de alperujo y los procesos de adsorción resultan determinantes en cuanto a la presencia del herbicida oxifluorfen en las aguas, ya que tienen una gran influencia sobre el resto de procesos que puede sufrir este herbicida en el suelo, fundamentalmente en lo que se refiere a persistencia y lixiviación. En el primer caso, ésta se va a ver incrementada considerablemente en los primeros 5 cm de suelo, lo que lleva asociado un alto riesgo de contaminación de aguas superficiales debido a fenómenos de escorrentías, especialmente en épocas invernales y en episodios de fuerte lluvia. Respecto a la movilidad vertical de oxifluorfen, ésta se ve influenciada por la temperatura y la materia orgánica soluble asociada a la enmienda, de modo que un aumento en ambos parámetros potenciaría la lixiviación de este herbicida.
2. Se considera la enmienda del suelo con compost de alperujo una práctica no recomendable cuando se va a llevar a cabo un tratamiento con oxifluorfen en el cultivo del olivar, tanto en labores previas (invierno) como posteriores a la recolección (primavera), ya que no garantiza la disminución del riesgo de contaminación de aguas.

- Capítulo V:

1. El uso de arcillas modelos (SWy), naturales y modificadas en laboratorio, arcillas locales y de bajo valor (CTI), y organoarcillas comerciales (Bentone® y Cloisite®) como soportes para formulaciones de liberación lenta de terbutilazina ha demostrado ser una estrategia efectiva en la disminución del riesgo de contaminación de aguas, ya que las concentraciones de herbicida liberado al medio se reducen

notablemente respecto a la formulación comercial, con independencia del tipo de complejo preparado. El uso de este tipo de formulaciones se vería además mejorada si la aplicación se realizara de forma localizada y a cierta profundidad ya que se evitaría el arrastre, y por tanto pérdidas, de los complejos herbicida-arcilla por fenómenos de escorrentía tras eventos de lluvias importantes.

2. Las organoarcillas comerciales estudiadas, e incluso la arcilla local y de bajo valor como CTI, presentan una serie de valores añadidos respecto a las arcillas modelo, en cuanto a su uso como soporte para formulaciones de liberación lenta, como son su posible competitividad en cuanto a costes y disponibilidad, lo que facilitaría considerablemente la aplicabilidad de dichas formulaciones.

Resumiendo, los 3 manejos o sistemas estudiados ofrecen en general ventajas y solo puntuales inconvenientes, para disminuir la contaminación de las aguas por la aplicación de herbicidas en el olivar, si bien se vuelve a poner de manifiesto que este balance de ventajas/inconvenientes depende fundamentalmente del producto activo de que se trate. Esto a su vez hace, una vez más, patente la necesidad continuada de este tipo de estudios, mediante los cuales, y combinando trabajos tanto a nivel de campo como de laboratorio, se consiga hacer este cultivo cada vez más sostenible y saludable.

CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFÍA

VII. BIBLIOGRAFÍA

Abu-Zreig M., Al-Widyan, M. (2002) Influence of olive mills solid waste on soil hydraulic properties. *Comm. Soil Sci. Plant* 33:505-517.

Adelino M.A. (2014) Estudio de diversos sistemas organo-arcillosos como adsorbents de plaguicidas para reducir su impacto ambiental. Tesis Doctoral.

Aguer J.P., Cox L., Richard C., Hermosín M.C., Cornejo, J. (2000a) Sorption and photolysis studies in soil and sediment of the herbicide napropamide. *J. Environ. Sci. Health Part B* 35: 725-738.

Aguer J.P., Hermosín M.C., Calderón M.J., Cornejo J. (2000b) Fenuron sorption on homoionic natural and modified smectites. *J. Environ. Sci. Health B* 35:279-296.

Ahuja L.R., Lehman O.R. (1983) The extent and nature of rainfall-soil interaction in the release of soluble chemicals to runoff. *J. Environ. Qual.* 12:34-40.

Albanis T.A., Boichichio S.A., Bufo I., Cospito M., D'Auria M., Lekka M., Scrano L. (2002) Surface adsorption and photo-reactivity of sulfonylurea herbicides. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 82:561-569.

Albarrán A., Celis R., Hermosín M.C., López-Piñeiro A., Ortega-Calvo J.J., Cornejo, J. (2003) Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* 19:150-156.

Alburquerque J.A., González J., García D., Cegarra J. (2004) Agrochemical characterisation of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource technol.* 91,:195-200.

Alcántara C., Pujadas A., Saavedra M. (2011) Management of cruciferous cover crops by mowing for soil and water conservation in southern Spain. *Agric. Water Manage.* 98: 1071-1080.

Alister C.A., Gómez P.A., Rojas S., Kogan M. (2009) Pendimethalin and oxyfluorfen degradation under two irrigation conditions over four years application. *J. Environ. Sci. Health B* 44:337-343.

Alletto L., Coquet Y., Benoit P., Heddadj D., Barriuso E. (2010). Tillage management effects on pesticide fate in soils. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30:367-400.

Álvarez.Martín A., Sánchez-Martín M.J., Pose-Juan E., Rodríguez-Cruz M.S. (2016). Effect of different rates of spent mushroom substrate on the dissipation and bioavailability of cymoxanil and tebuconazole in an agricultural soil. *Sci. Total Environ.* 550: 495-503.

Arias-Estévez M., López-Periago E., Martínez-Carballo E., Simal-Gándara J., Mejuto J.C., García-Río L. (2008) The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agric. Ecosys. Environ.* 123:247-260.

Arora K., Mickelson S. K., Helmers M. J., Baker J. L. (2010). Review of pesticide retention processes occurring in buffer strips receiving agricultural runoff. *J. Am. Water Resources Assoc. (JAWRA)* 46:618-647.

Bailey G.W., White J.L. (1970) Factor influencing adsorption, desorption and movement of pesticides in soils. *Res. Rev.* 32:29-92.

Barba-Briosio C., Fernández-Caliani J. C., Miras A., Cornejo J., Galán E. (2010). Multi-source water pollution in a highly anthropized wetland system associated with the estuary of Huelva (SW Spain). *Marine pollut. Bull.* 60:1259-1269.

Barriuso E., Laird D.A., Koskinen W.C., Dowdy R.H. (1994) Atrazine desorption from smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58:1632-1638.

Base de datos del Consejo Internacional del Olivo (2008) www.internationaloliveoil.org.

Bedos C., Cellier P., Calvet R., Barriuso E., Gabrielle B. (2002) Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview. *Agronomie* 22:21-33.

Belmonte Vega A., Garrido Frenich A., Martínez Vidal J. L. (2005). Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 538:117-127.

Beulke S., Dubus I. G., Brown C. D., Gottesbüren B. (2000). Simulation of pesticide persistence in the field on the basis of laboratory data: a review. *J. Environ. Qual.* 29:1371-1379.

Beulke S., Brown C. D. (2001). Evaluation of methods to derive pesticide degradation parameters for regulatory modelling. *Biol. Fertil. Soils* 33:558-564.

Blevins R.L. (1986) Idoneidad del suelo para el laboreo nulo. En: *Phillips and Phillips, Agricultura sin laboreo*. Ed. Bellaterra S.A. Barcelona 44-68

Borggaard O.L., Gimsing A.L. (2008) Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest Manage. Sci.* 64:441-456.

Bolan N.S., Adriano D.C., Kunhikrishnan A., James T, McDowell R., Senesi N. (2011). Dissolved organic matter: biochemistry, dynamics and environmental significance in soils. *Adv. Agron.* 110:1-75

Bouchard D.C., Lavy T.L., Marx D.B. (1982) Fate of metribuzin, metolachlor and fluometuron in soil. *Weed Sci.* 30:629-632.

Bouseba B., Zertal A., Beguet J., Rouard N., Devers M., Martin C., Morlen C., Martin-Laurent F. (2009) Evidence of 2,4-D mineralisation in Mediterranean soils: impact of moisture content and temperature. *Pest Manage. Sci.* 65:1021-1029.

Bowman G., Shirley C., Cramer G. (2000) Benefits of cover crops. In: *Clark, A. (Ed). Managing Cover Crops Profitably. Sustainable Agriculture Network, Beltsville, MD*, pp. 9-11.

Boyd S.A., Shaobai S., Lee J.F., Mortland M.M. (1988) Pentachlorophenol sorption by organo-clays. *Clays and Clay Minerals.* 36:125-130.

Bronick C.J., Lal R. (2005). Soil structure and management: a review. *Geoderma* 124:3-22.

Bruna F. (2010) Aplicación de hidrotalcitas como adsorbentes para la reducción de la contaminación por plaguicidas de aguas y suelos. Tesis Doctoral.

Cabrera A., Cox L., Velarde P., Koskinen W.C., Cornejo J. (2007) Fate of diuron and terbuthylazine in soils amended with two-phase olive mill waste. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 4828-4834.

Cabrera A., Cox L., Koskinen WC, Sadowsky MJ. (2008). Availability of triazine herbicides in aged soils amended with olive oil mill waste. *J. Agric. Food Chem.* **56**:4112-4119

Cabrera A., Cox L., Spokas K.A., Celis R., Hermosin M.C., Cornejo J., Koskinen W.C. (2011). Comparative sorption and leaching study of the herbicides fluometuron and 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA) in a soil amended with biochars and other sorbents. *J. Agric. Food Chem.* **59**:12550-12560.

Cai D., Wang L., Zhang G., Zhang X., Wu Z. (2013) Controlling pesticide loss by natural porous micro/nano composites: straw ash-based biochar and biosilica. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **5**:9212-9216.

Calderón M.J., Real M., Cabrera A., Koskinen W.C., Cornejo J., Hermosín M.C. (2015). Influence of olive oil mill waste amendment on fate of oxyfluorfen in southern Spain soils. *Clean-Soil Air Water* **43**:1107-1113.

Calvet R. (1989) Adsorption of organic chemicals in soils. *Environ. Health Perspectives* **83**: 145-177.

Cardinali A., Otto S., Zanin B. (2013). Herbicides runoff in vegetative filter strips: evaluation and validation of a recent rainfall return period model. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 93:1628-1637.

Casalí J., Giménez R., Díez J., Álvarez-Mozos J., Del Valle de Lersundi J., Goñi M., López J. (2010). Sediment production and water quality of watersheds with contrasting land use in Navarre (Spain). *Agric. Water Manage.* 97:1683-1694.

Castro J. (1993) Control de la erosión en cultivos leñosos con cubiertas vegetales vivas. Tesis Doctoral. Departamento de Agronomía. Universidad de Córdoba.

Cavani F., Tirifo F., Vaccaci A. (1991) Hydrotalcite-type anionic clays preparation, properties and applications. *Catalysis Today* 11:173-301.

Celis R., Barriuso E. & Houot S. (1998) Effect of liquid sewage sludge addition on atrazine sorption and desorption by soil. *Chemosphere* 37:1091-1107.

Celis R., Cornejo J., Hermosín M.C., Koskinen W.C. (1997) Sorption-desorption of atrazine and simazine by model soil colloidal components. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:436-443.

Celis R., Koskinen W.C. (1999a) An isotopic exchange method for the characterization of the irreversibility of pesticide sorption-desorption in soil. *J. Agric. Food Chem.* 47:782-790.

Celis R., Koskinen W.C., Cecchi A.M., Bresnahan G.A., Carrizosa M.J., Ulibarri M.A., Pavlovic I., Hermosín M.C. (1999b) Sorption of the ionizable pesticide imazamox by organo-clays and organohydrotalcites. *J. Environ. Sci. Health B* 34:929-941.

Celis R., Koskinen W.C., Hermosín M.C., Ulibarri M.A., Cornejo J. (2000) Triadimefon interactions with organoclays and organohydrotalcites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:36-43.

Celis R., Hermosín M.C., Carrizosa M.J., Cornejo J. (2002) Inorganic and organic clays as carriers for controlled release of the herbicide hexazinone. *J. Agric. Food Chem.* 50:2324-2330.

Celis R., de Jonge H., de Jonge L.W., Real M., Hermosín M.C. & Cornejo, J. (2006) The role of mineral and organic components in phenanthrene and dibenzofuran sorption by soil. *Euro. J. Soil Sci.* 57:308-319.

Celis R., Trigo C., Facenda G., Hermosín M.C., Cornejo J. (2007) Selective modification of clay minerals for the adsorption of herbicides widely used in olive groves. *J. Agric. Food Chem.* 55: 6650-6658.

Celis R., Adelino M.A., Hermosín M.C., Cornejo J. (2012) Montmorillonite-chitosan bionanocomposites as adsorbents of the herbicide clopyralid in aqueous solution and soil/water suspensions. *J. Hazard. Mat.* 209-210:67-76.

Celis R., Adelino M.A., Gámiz B., Hermosín M.C., Koskinen W.C., Cornejo J. (2014) Nanohybrids of Mg/Al layered double hydroxide and long-chain (C18) unsaturated fatty acid anions: structure and sorptive properties. *Appl. Clay Sci.* 96:81-90.

Cerejeira M.J., Viana P., Batista S., Pereira T., Silva E., Valérico M.J., Silva A., Ferreira M., Silva-Fernandes A.M. (2003). Pesticides in Portuguese Surface and ground waters. *Water Res.* 37:1055-1063.

Chen J., Wang W., Xu Y., Zhang X. (2011). Slow-release formulation of a new biological pesticide, pyoluteorin with mesoporous silica. *J. Agric. Food Chem.* 59:307-311.

Chevillard A., Angellier-Coussy H., Guillard V., Gontard N., Gastaldi E. (2012a). Investigating the biodegradation pattern of an ecofriendly pesticide delivery system based on wheat gluten and organically modified montmorillonites. *Polymer Degradation and Stability* 97:2060-2068.

Chevillard A., Angellier-Coussy H., Peyron S., Gontard N., Gastaldi E. (2012b). Investigating ethofumesate-clay interactions for pesticide controlled release. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 76:420-431.

Chibwe K., Jones W. (1989) Intercalation of organic and inorganic anions into layered double hydroxides. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 14:926-927.

Chiou C.T., Kile D.E. (1994). Effects of polar and nonpolar groups on the solubility of organic compounds in soil organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 28:1139-1144.

Cornejo J., Hermosín M.C., White J.L., Barnes J.R. & Hem S.L. (1983) Role of ferric iron in oxidation of hydrocortisone by sepiolite and palygorskite. *Clays and Clay Minerals* 31:109-112.

Cornejo L., Celis R., Domínguez C., Hermosín M.C., Cornejo J. (2008) Used of modified montmorillonites to reduce herbicide leaching in sports turf surfaces: laboratory and field experiments. *Appl. Clay Sci.* 42:284-291.

Cornejo J., Celis R., Pavlovic I., Ulibarri M.A. (2008) Interactions of pesticides with clays and layered double hydroxides: a review. *Clay Minerals* 43:155-175.

Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J. (1995) Adsorption and desorption of the herbicide thiazafluron as a function of soil properties. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 58:305-314.

Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J., Mansour, M. (1996) Photolysis of met amitron in the presence of soils and particulate matter. *Chemosphere* 33:2057-2064.

Cox L., Becker A., Celis R., Hermosín M.C., Cornejo J. (1997) Leaching of two herbicides in soils amended with olive-mill wastewater. *Agric. Ecosys. Environ.* 65:151-161.

Cox L., Calderón M.J., Hermosín M.C., Cornejo J. (1999a). Leaching of clopyralid and met amitron under conventional and reduced tillage systems. *J. Environ. Qual.* 28: 605-610.

Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J. (1999b) Leaching of simazine in organic-amended soils. *Comm. Soils Sci. Plant Anal.* 30:1697-1706.

Cox L., Celis R., Hermosín M.C., Cornejo J. (2000) Natural soil colloids to retard simazine and 2,4-D leaching in soil. *J. Agric. Food Chem.* 48:93-99.

Cox L., Koskinen W.C., Hermosín M.C., Cornejo J., Arthur E.L. (2002) Sorption of two new sulfonylaminocarbonyltriazolinone herbicides and their metabolites on organic and inorganic exchanged smectites. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 82:8-99.

Cox L., Velarde P., Cabrera A., Hermosín M.C., Cornejo, J. (2007) Dissolved organic carbon interactions with sorption and leaching of diuron in organic amended soils. *Euro. J. Soil Sci.* 58:714-721.

Dabney S. M., Delgado J. A., Reeves D. W. (2001). Using winter cover crops to improve soil and water quality. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 32:1221-1250.

De Lorenzo M.E., Scott G.I., Ross P.E. (2001). Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: a review. *Environ. Toxicol. Chem.* 20:84-98.

De Martino A., Arienzo M., Iorio M., Vinale F., Lorito M., Prenzler P.D., Ryan D., Obied H.K. (2011) Detoxification of olive mil wastewater by zinc-aluminium layered double hydroxides. *Appl. Clay Sci.* 53:737-744.

Dixon J.B., Weed S.B. (1989). Minerals in soils environments. 2nd Ed SSSA, Madison, 1244.

Dunjó G., Pardini G., Gispert M. (2004). The role of land use–land cover on runoff generation and sediment yield at a microplot scale, in a small Mediterranean catchment. *J. Arid Environ.* 57:239-256.

Espigares M., Coca C., Fernández-Crehuet M., Moreno O., Bueno A., Galvez R. (1997). Pesticide concentrations in the waters from a section of the Guadalquivir river basin, Spain. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 12:249-256.

Fadayomi O., Warren G.F. (1977) Adsorption, desorption and leaching of nitrofen and oxyfluorfen. *Weed Sci.* 25:97-100.

Fenoll-Serrano J., Ruiz E., Hellin P., Lacasa A., Flores P. (2010) Enhanced dissipation of oxyfluorfen, ethalfluralin, trifluralin, propyzamide and pendimethalin in soil by solarization and biosolarization. *J. Agric. Food Chem.* 58:2433-2438.

Fernandes M.C., Cox L., Hermosín M.C., Cornejo J. (2006) Organic amendments affecting sorption, leaching and dissipation of fungicides in soils. *Pest Manage. Sci.* 62:1207-1215.

Fernández-Pérez M., Villafranca-Sánchez M., Flores-Céspedes F., Daza-Fernández I. (2011). Ethylcellulose and lignin as bearer polymers in controlled release formulations of chloridazon. *Carbohydr. Polym.* 83:1672-1679.

Ferrer I., Lanza F., Tolokan A., Horvath V., Sellergren B., Horvai G., Barceló D. (2000) Selective trace enrichment of chlorotriazine pesticides from natural waters and sediment samples using terbutylazine molecularly imprinted polymers. *Anal. Chem.* 72: 3934-3941.

Flores-Céspedes F., Villafranca-Sánchez M., Pérez-García S., Fernández-Pérez M. (2007). Modifying sorbents in controlled release formulations to prevent herbicides pollution. *Chemosphere* 69:785-794.

Flury M. (1996). Experimental evidence of transport of pesticides through field soils: A review. *J. Environ. Qual.* 25:25-45.

Gallart F., Llorens, P. (2003). Catchment management under environmental change: impact of land cover change on water resources. *Water Int.* 28:334-340.

Gámiz B., Celis R., Hermosín M.C., Cornejo J. (2010) Organoclays as soil amendments to increase the efficacy and reduce the environmental impact of the herbicide fluometuron in agricultural soils. *J. Agric. Food Chem.* 58:7893-7901.

Gámiz B., Celis R., Cox L., Hermosín M.C., Cornejo, J. (2012) Effect of olive oil mill waste addition to soil on sorption, persistence, and mobility of herbicides used in Mediterranean olive groves. *Sci. Total Environ.* 429:292-299

García-Ruiz J.M., (2010). The effects of land uses on soil erosion in Spain: a review. *Catena* 81:1-11.

Giles C.H., MacEwan S.N., Nakhwa S.N., Smith D. (1960) Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherm, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface area in solids. *J. Chem. Soc.* pp. 3973-3993.

Gimsing H.L., Sorensen J.C., Tovgaard L. (2006) Degradation kinetics of glucosinates in soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 25:2038-2044.

Gómez J. A., Romero P., Giráldez J. V., Fereres E. (2004). Experimental assessment of runoff and soil erosion in an olive grove on a Vertic soil in southern Spain as affected by soil management. *Soil Use Manage.* 20:426-431.

Gómez J.A., Sobrinho T.A., Giráldez J.V., Fereres E. (2009a) Soil management effects of runoff, erosion and soil properties in an olive grove of Southern Spain. *Soil Till. Res.* 102:5-13.

Gómez J.A., Guzmán M.G., Giráldez J.V., Fereres E. (2009b) The influence of cover crops and tillage on water and sediment yield, and on nutrient, and organic matter losses in an olive orchard on a sandy loam soil. *Soil Till. Res.* 106:137-144.

Gómez J.A., Llewellyn C., Basch G., Sutton P.B., Dyson J.S., Jones C.A. (2011) The effects of cover crops and conventional tillage on soil and runoff loss in vineyards and olive groves in several Mediterranean countries. *Soil Use Manage.* 27:502-514.

González I., Galán E., Miras A., Aparicio P. (1998) New uses for brick-making clay materials from the bailen área (Southern Spain). *Clay Minerals* 33:453-465.

Grayston S.J.; Griffith G.S., Mawdsley J.L., Campbell C.D., Bardgett R.D. (2001) Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems *Soil Biol. Biochem.* 33:533-551.

Gregg S.J., Sing K.S.W. (1982) Adsorption, surface area and porosity. *London, Academic Press*

Guardia-Rubio M., Ruiz-Medina A., Molina-Diaz A., Ayora-Canada M.J. (2008) Pesticide residue in washing water of olive oil mills: effect on olive washing efficiency and decontamination proposal. *J. Sci. Food Agric.* 88:2467-2473.

Hall KE, Ray C, Ki SJ, Spokas KA, Koskinen WC. (2015). Pesticide sorption and leaching potential on the Hawaiian soils. *J Environ Manage* 159:227-234.

Harper S.S. (1994). Sorption-desorption and herbicide behavior in soil. *Rev. Weed Sci.* 6:207-225.

Hermosín M.C., Cornejo J. (1992) Removing 2,4-D from water by organo-clays. *Chemosphere* 24:1493-1503.

Hermosín M.C., Pavlovic I., Ulibarri M.A., Cornejo J. (1996) Hydrotalcite as sorbent for trinitophenol: sorption capacity and mechanism. *Water Research* 30: 171-177

Hermosín M.C., Calderón M.J., Aguer J.P., Cornejo J. (2001). Organoclays for controlled release of the herbicide fenuron. *Pest Manage. Sci.* 57:803-809.

Hermosín M.C., Celis R., Facenda M.J., Carrizosa M.J., Ortega-Calvo J.J., Cornejo J. (2006) Bioavailability of the herbicide 2,4-D formulated with organoclays. *Soil Biol. Biochem.* 38:2117-2124.

Hermosín M.C., Calderón M.J., Real M., Cornejo J. (2013) Impact of herbicides used in olive groves on waters of the Guadalquivir river basin (southern Spain). *Agric. Ecosys. Environ.* 164:229-243.

Hernández F., Sancho J.V., Pozo O., Iara A., Pitarch E. (2001). Rapid direct determination of pesticides and metabolites in environmental water samples at sub- $\mu\text{g/l}$ level by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 939: 1-11.

Hernández A.J., Lacasta C., Pastor J. (2005) Effects of different management practices on soil conservation and soil water in a rainfed olive orchard. *Agric. Water Manage.* 77:232-248.

Hingston F.J., Posner A.M., Quirk J.P. (1972). Anion adsorption by goethite and gibbsite. I. The role of the proton in determining adsorption envelopes. *J. Soil Sci.*

Horspool W.M. (1970) Aspects of organic photochemistry. *Ed. Academic Press. Londres*

Jaynes W.F., Boyd S.A. (1991) Clay minerals type and organic compound sorption by hexadecyltrimethylammonium exchanged clays. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55:43-48.

Johnston C.T. (2010). Probing the nanoscale architecture of clay minerals. *Clay Minerals* 45:245-279.

Junta de Andalucía (2014). Consejería de Economía y Conocimiento. http://www.juntadeandalucia.es/institutodeestadisticaycartografia/temas/est/tema_agricultura.htm

Kah M., Brown C.D. (2006). Adsorption of ionisable pesticides in soils. In: *Reviews of environmental contamination and toxicology* (pp. 149-217). Springer, New York.

Kah M., Beulke S., Brown C.D. (2007). Factors influencing degradation of pesticides in soil. *J. Agric. Food Chem.* 55:4487-4492.

Kah M., Hofman T. (2014). Nanopesticide research: current trends and future priorities. *Environ. Int.* 63:224:235.

Kearny P.C., Shelton D.R., Koskinen W.C. (1997). Soil chemistry of pesticides. En: *Encyclopedia of Chemical Technology*, 4ª Edición, Vol. 22, (Ed. M. Howe-Grant) pp. 419-451, *John Wiley & Sons, New York*.

Kodaka R., Sugano T., Katagi T., Takimoto Y. (2003). Comparative metabolism of organophosphorus pesticides in water-sediment systems. *J. Pest. Sci.* 28:175-182.

Konstantinou I.K., Zarkadis A.K., Albanis T.A. (2001) Photodegradation of selected herbicides in various natural waters and soils under environmental conditions. *J. Environ. Qual.* 30:121-130.

Kookana R. S., Aylmore L. A. G., Gerritse R. G. (1992). Time-dependent sorption of pesticides during transport in soils. *Soil Sci.* 154:214-225.

Kookana R.S., Baskaran S., Naidu, R. (1998) Pesticide behaviour in australian soils in relation to contamination and management of soil and water. *Austral. J. Soil Res.* 36:715-764.

Krutz L.J., Senseman S.A., Zablotowicz R.M., Matocha M.A. (2005). Reducing herbicide runoff from agricultural fields with vegetative filter strips: a review. *Weed Science* 53:353-367.

Lagaly G. (2001) Pesticide-clay interactions and formulations. *Appl. Clay Sci.* 18:205-209.

Lal, R. (2004). Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *Science* 304:1623-1627.

Li F., Zhang L., Evans D.G., Forano C., Duran X. (2004) Structure and thermal evolution of Mg-Al layered double hydroxide containing interlayer organic glyphosate anions. *Thermochimica Acta* 424:15-23.

Li P., Yin L., Song G., Sun J., Wang L., Wang H. (2008) High-performance EPDM/organoclay nanocomposites by melt extrusion. *Appl. Clay Sci.* 40:38-44.

Loha K.M., Shakil N.A., Kumar I., Singh M., Srivastava C. (2012). Bio-efficacy evaluation of nanoformulations of beta-cyfluthrin against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *J. Environ. Sci. Health B* 47:687-691.

López-Piñeiro A., Pena D., Albarrán A., Sánchez-Llerena J., Becerra D. (2014). Long-term effects of olive mil waste amendment on the leaching of herbicides through undisturbed soil columns and mobility under field conditions. *Soil Till. Res.* 144: 195-204.

Mansour M., Feicht E., Mealiar P. (1989) Improvement of the photostability of selected substances in aqueous medium. *Toxicol. Environ. Chem.* 20-21:139-147.

Mantzos N, Karakitsou A, Hela D, Patakioutas G, Leneti E, Konstantinou I. (2014). Persistence of oxyfluorfen in soil, runoff water, sediment and plants of a sunflower cultivation. *Sci Total Environ* 472:767-777

Mapama (2015). Estadística anual de consumo de productos fitosanitarios. <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/estadisticas-medios-produccion/fitosanitarios.aspx>

Martínez M.J., Farsaoui K., De Prado R. (2004) Weed control and persistence of two oxyfluorfen formulations in olive groves under no tillage conditions. *Comm. Appl. Biol. Sci., Ghent University* 69:77-82.

Melo C.A.D., Madeiros W.N., Santos L.D.T., Ferreira F.A., Tiburcio R.A.S., Ferreira L.R. (2010) Leaching of sulfentrazone, isoxaflutole and oxyfluorfen in three soil profiles. *Planta Daninha* 28:385-392.

Mojasevic M., Helling C.S., Gish T.J., Doherty M.A. (1996) Persistence of seven pesticides as influenced by soil moisture. *J. Environ. Sci. Health Part B* 31:469-476.

Moorman T.B., Cowan J.K., Arthur E.L., Coats J.R. (2001) Organic amendments to enhance herbicide biodegradation in contaminated soils. *Biol. Fertil. Soils* 33:541-545.

Müller K, Trolove M, James T, Rahman A. (2002). Herbicide runoff studies in an arable soil under simulated rainfall. *New Zeal Plant Prot* 55:172-176.

Ngigi A., Dorfler U., Scherb H., Getenga Z., Boga H. (2011) Effect of fluctuating soil humidity on in situ bioavailability and degradation of atrazine. *Chemosphere* 84:369-375.

Nieto O.M., Castro J., Fernández-Ondoño E. (2013) Conventional tillage versus cover crops in relation to carbon fixation in Mediterranean olive cultivation. *Plant Soil* 365:321-335

Osgerby J.M. (1970) Sorption of un-ionized pesticides by soils. *En: Sorption and Transport Processes in Soils. SCI Monograph* 37, pp 63-78.

Otto S., Cardinali A., Marotta E., Paradisi C., Zanin G. (2012). Effect of vegetative filter strips on herbicide runoff under various types of rainfall. *Chemosphere* 88: 113-119.

Pankaj Shakil N.A., Kumar J., Singh M.K. (2012). Bioefficacy evaluation of controlled release formulations based on amphilic nano-polymer of carbofuran

against *Meloidogyne incognita* infecting tomato. *J. Environ. Sci. Health B* 47:520-528.

Pastor M., Guerrero A. (1990) Influence of non-tillage on olive grove production. *Acta Horticult.* 286:283-286

Pastor M., Castro J., Humanes M.D., Muñoz J. (2000) Sistemas de manejo del suelo en olivar de Andalucía. *Conferencia del V Congreso Nacional de Suelos (Baeza, 2000)* 8, 75-98.

Pavlovic I., Ulibarri M.A., Hermosín M.C., Cornejo J. (1997) Sorption of an anionic surfactant from water by a calcinated hydrotalcite like sorbent. *Fresenius Env. Bull.* 6:266-271.

Plan Director del Olivar Andaluz (2015). Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía. <http://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/Plan%20Director%20del%20Olivar.pdf>

Premrov A., Coxon C.E., Hackett R., Kirwan L., Richards K.G. (2012) Effects of over-winter green cover on groundwater nitrate and dissolved organic carbon concentrations beneath tillage land. *Sci. Total Environ.* 438:144-153.

Pignatello J.J., Xing B.S. (1996) Mechanism of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environ. Sci. Technol.* 30:1-11.

Ritter W.F. (1990). Pesticide contamination of ground water in the United States-A review. *J. Environ. Sci. Health B* 25:1-29.

Reicosky, D. C., Kemper, W. D., Langdale, G., Douglas, C. L., Rasmussen, P. E. (1995). Soil organic matter changes resulting from tillage and biomass production. *J. Soil Water Cons.* 50:253-261.

Robles-Molina J., Gilbert-López B., García-Reyes J.F., Molina-Díaz A. (2014). Monitoring of selected priority and emerging contaminants in the Guadalquivir River and other related Surface waters in the province of Jaén, South East Spain. *Sci. Total Environ.* 479-480:247-257.

Rodríguez-Cruz M.S., Sánchez-Martín M.J., Andrades M.S., Sánchez-Camazano M. (2007) Modification of clay barriers with a cationic surfactant to improve the retention of pesticides in soils. *J. Hazard. Mat.* 139:363-372.

Rodríguez-Liébana J.A., El Gonzi S., Mingorance M.D., Castillo A., Peña A. (2014). Irrigation of a Mediterranean soil under field conditions with urban wastewater: Effect on pesticide behaviour. *Agric. Ecosys. Environ.* 185: 176-185.

Rodríguez-Lucena P., Hernández D, Hernández-Apaolaza L, Lucena J.J. (2010) Revalorization of a two-phase olive mil waste extract into a micronutrient fertilizer. *J. Agric. Food Chem.* 58:1085-1092.

Roig A., Cayuela M.L., Sánchez-Monedero M.A. (2006) An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Manage.* 26:960-969.

Romero E. Dios G., Mingorance M.D., Matallo M.B., Peña A., Sánchez-Rasero F. (1998) Photodegradation of mecoprop and dichloprop on dry, wet and amended soil exposed to sunlight. *Chemosphere* 37:587-589.

Russell J.D., Cruz M.I., White J.L. (1968) The adsorption of 3-aminotriazole by montmorillonite. *J Agric. Food Chem.* 16: 21-24.

Rutherford D.W., Chiou C.T., Kile D.E. (1992) Influence of soil organic matter composition on the partition of organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 26:336-340.

Saavedra M., Pastor M. (1994) La flora del olivar y el uso de herbicidas. *Agricultura* 746:748-753.

Sánchez L., Romero E., Peña A. (2005) Photostability of methidation in wet soil amended with biosolid and surfactant under solar radiation. *Chemosphere* 59:969-976.

Sánchez-Martín M.J., Villa M.V., Sánchez-Camazano M. (1999) Glyphosate-hydrotalcite interaction as influenced by pH. *Clays and Clay Minerals* 47:777-783.

Schnitzer M., Kahn S.U. (1972). Humic substances in the environment

Scrano L., Bufo S.A., D'Auria M., Emmelin, C. (1999) Photochemical behaviour of oxyfluorfen: a diphenyl-ether herbicide. *J. Photochem. Photobiol. A* 129:65-70.

Scrano L., Bufo S.A., Cataldi T.R.I., Albanis T.A. (2004) Surface retention and photochemical reactivity of the diphenylether herbicide oxyfluorfen. *J. Environ. Qual.* 33:605-611.

Serrano-Muela M. P., Lana-Renault N., Nadal-Romero E., Regüés D., Latron J., Martí-Bono C., García-Ruiz J. M. (2008). Forests and their hydrological effects in

mediterranean mountains: The case of the Central Spanish Pyrenees. *Mountain Res. Develop.* 28:279-285.

Sharpley A.N. (1985) Depth of surface soil-runoff interaction as affected by rainfall, soil slope, and management. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49:1010-1015.

Shelton D.R., Parkin T.B. (1991) Effect of soil moisture on sorption and biodegradation of carbofuran in soil. *J. Agric. Food Chem.* 39:2063-2068.

Shirvani M., Farajollahi E., Bakhtiari S., Ogunseitan O.A. (2014). Mobility and efficacy of 2,4-D herbicide from slow-release delivery systems based on organo-zeolite and organo-bentonite complexes. *J. Environ. Sci. Health B* 49:255-262.

Silva Md.S., Cocenza D.S., Grillo R., de Melo N.F.S., Tonello P.S., de Oliveira L.C., Cassimiro D.L., Rosa A.H., Fraceto L.F. (2011). Paraquat-loaded alginate/chitosan nanoparticles: preparation, characterization and soil sorption studies. *J. Hazard. Mat.* 190:366-374.

Suciu N.A., Capri E. (2009) Adsorption of chlorpyrifos, penconazole and metalaxyl from aqueous solution by modified clays. *J. Environ. Sci Health B* 44:525-532.

Tomlin C.D.S.(2006) The Pesticide Manual. *British Crop Protection Council, Alton, UK.*

Trigo C. 2010. Evaluación de formulaciones basadas en minerales de arcilla para aumentar la eficacia y reducir la contaminación de aguas superficiales y subterráneas por herbicidas utilizados en el olivar. Tesis Doctoral

Ulrich U., Dietrich A., Fohrer N. (2013). Herbicide transport via surface runoff during intermittent artificial rainfall: A laboratory plot scale study. *Catena* 101:38-49.

Undabeytia T., Nir S., Rubin B. (2000) Organo-clay formulations of the hydrophobic herbicide norflurazon yield reduced leaching. *J. Agric. Food Chem.* 48:4767-4773.

Undabeytia T., Galán-Jimenez M.C., Gómez-Pantoja E., Vázquez J., Casal B., Bergaya F. Morillo E. (2013). Fe-pillared clay mineral-based formulations of imazaquin for reduced leaching in soil. *Appl. Clay Sci.* 80-81:382-389.

Vianello M., Vischetti C., Scarponi L., Zanin G. (2005) Herbicide losses in runoff events from field with a low slope: Role of a vegetative filter strip. *Chemosphere* 61: 717-725.

Wang H., Li Y., Wang X. (2008). Modification of imazaquin degradation in soil amended with farm manure. *Soil Sedim. Contam.* 17:41-52.

Washburn, E. W. (1921). The dynamics of capillary flow. *Physical rev.* 17:273.

Wauchope R.D. (1978) Pesticide content of surface-water draining from agricultural fields- Review. *J. Environ. Qual.* 7:459-472.

Wauchope R.D., Myers R.S. (1985) Adsorption-desorption kinetics of atrazine and linuron in freshwater-sediment aqueous slurries. *J. Environ. Qual.* 14:132-136.

Wauchope R.D., Buttler T.M., Augustijn-Beckers P.W.M., Burt J.P. (1992) The SCS/ARS/CES pesticide properties database for environmental decision-making. *En: Ware, G.W. (Eds.). Review on Environment Contamination Toxicology, vol. 123, pp. 1-155. Springer, Fifth Avenue, San Mateo, CA.*

Wauchope R.D., Yeh S., Linders J.B.H.J., Kloskowski R., Tanaka K., Rubin B., Katayama A., Kördel W., Gerstl Z., Lane M., Unsworth J.B. (2002) Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Manage. Sci.* 58:419-445.

White P.M., Potter T.L., Bosch D.D., Joo H., Schaffer B., Muñoz-Carpena R. (2009). Reduction in metolachlor and degradate concentrations in shallow groundwater through cover crop use. *J. Agric. Food Chem.* 57: 9650-9667.

Willis G. H., McDowell L. L. (1982). Pesticides in agricultural runoff and their effects on downstream water quality. *Environ. Toxicol.Chem.* 1:267-279.

Worrall F., Fernandez-Perez M., Johnson A.C., Flores-Cespedes F., Gonzalez-Pradas E. (2001) Limitations on the role of incorporated organic matter in reducing pesticide leaching. *J. Contamin. Hydrol.* 49:241-262.

Wu Q, Riise G, Lundekvam H, Mulder J, Haugen LE. (2004). Influences of suspended particles on the runoff of pesticides from an agricultural field at Askim, SE-Norway. *Environ Geochem Health* 26:295-302.

Yan Y., Hou H., Ren T., Xu Y., Wang Q., Xu W. (2013). Utilization of environmental waste cyanobacteria as a pesticide carrier: studies on controlled release and photostability of avermectin. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 102:341-347.

Yen J.H., Sheu W.S., Wang Y.S. (2003) Dissipation of the herbicide oxyfluorfen in subtropical soils and its potential to contaminate groundwater. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 54:151-156.

Ying GG, Williams B. (2000). Dissipation of herbicides in soil and grapes in a South Australian vineyard. *Agr Ecosyst Environ* 78:283-289.

Yusoff S.N.M., Kamari A., Aljafree N.F.A. (2016). A review of materials used as carrier agents in pesticide formulations. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 13:2977-2994.

Zhang C., Liu G., Xue S., Song Z. (2011) Rhizosphere soil microbial activity under different vegetation types on the Loess Plateau, China. *Geoderma* 161:115-125.

Zhang X., Liu J., Hou W., Tong J., Ren L., Sun G., Sun Y. (2016). Preparation and properties of pesticide/cyclodextrin complex intercalated into ZnAl-layered double hydroxide. *Ing. Eng. Chem. Res.* 55:1550-1558.

Zhao D., Zhang Y., Lv L., Li J. (2013). Preparation and release of avermectin-loaded cellulose acetate ultrafinefibers. *Polym. Eng. Sci.* 53:609-614.

CAPÍTULO VIII. PUBLICACIONES

REFERENCIAS:

Calderón M.J., Real M., Cabrera A., Koskinen W.C., Cornejo J., Hermosín M.C. (2015) Influence of olive mil waste amendment on fate of oxyfluorfen in Southern Spain soils. *Clean-Soil, Air, Water* 43 (7), 1107-1113.

Calderón M.J., De Luna E., Gómez J.A., Hermosín M.C. (2015) Seasonal terbuthylazine monitoring in olive groves under conventional tillage. *Spanish Journal of Soil Science* 5(3), 191-200

Calderón M.J., De Luna E., Gómez J.A., Hermosín M.C. (2016) Herbicide monitoring in soil, runoff waters and sediments in an olive orchard. *Science of the Total Environment* 569-570, 416-422.

